

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ESTUDOS SOBRE A FLUORESCÊNCIA DO PIRENO: UMA
PROPOSTA PEDAGÓGICA PARA DISCIPLINAS DE
FÍSICO-QUÍMICA EXPERIMENTAL**

FRANCIELE DREWS

Florianópolis

2008

FRANCIELE DREWS

**ESTUDOS SOBRE A FLUORESCÊNCIA DO PIRENO: UMA
PROPOSTA PEDAGÓGICA PARA DISCIPLINAS DE
FÍSICO-QUÍMICA EXPERIMENTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Química, do Centro de Ciências Físicas e
Matemáticas da Universidade Federal de
Santa Catarina, como requisito parcial
para a obtenção do título de Bacharel em
Química, sob orientação do Prof. Dr.
Edson Minatti.

Florianópolis

2008

Aos meus amados pais, Renildo e Vera,
por todo amor dedicado a mim e meus
irmãos, Fabiane e Arthur Bernardo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo amor incondicional e pela esperança de um futuro eterno e justo. Obrigada por seu Filho Jesus.

Aos meus pais, Renildo e Vera, que têm me sustentado de diversas maneiras. Obrigada por todas as atitudes e palavras de amor; pelo exemplo de pai e mãe que são para mim.

A minha irmã, Fabiane, pelo apoio demonstrado num dos momentos mais difíceis da minha vida. E também obrigada pelos “puxões de orelha” (necessários!).

Ao meu irmão, Arthur Bernardo, pelos risos e sua disposição adolescente que contagia. Obrigada, “sapão”!

Ao professor Edson Minatti, pela proposta deste trabalho e pela paciência com os meus “sumiços”. Obrigada pela compreensão.

Ao Ismael, pela ajuda no uso do fluorímetro. Obrigada pelo seu tempo.

Aos professores Luiz Fernando Probst e Valdir Soldi, que disponibilizaram um espaço em suas aulas para a realização deste trabalho. Obrigada pela solicitude.

Aos alunos das turmas 729B, 2008.1, e 729A e 729B, 2008.2, por terem aceitado a realização do experimento proposto neste trabalho, na disciplina de Físico-Química Experimental II. Obrigada pela atenção e contribuições.

As minhas amigas, Samira e Geovana, por me incentivarem a terminar o Bacharelado em Química. Obrigada pelas amizades sinceras.

Aos Peregrinos, minha família em Cristo, por tudo o que tenho aprendido e vivido com vocês. Obrigada a **cada pessoa** por fazer parte da minha vida e por me permitir fazer parte da sua.

Ao meu amigo, ex-colega e namorado, Bernardo, pelo apoio emocional, principalmente nestes últimos dias, para que eu terminasse este trabalho.

Às *Nabinhas*, pelo tempo e maneira como nossa amizade têm se estendido ao longo destes anos. Obrigada pelo encorajamento e carinho.

“É preciso ousar, aprender a ousar, para
dizer NÃO à burocratização da mente a
que nos expomos diariamente”.

(Paulo Freire)

RESUMO

O presente trabalho trata-se da proposição de um novo experimento didático-pedagógico, para disciplinas de Físico-Química Experimental de cursos de graduação em Química, envolvendo a espectroscopia de emissão de fluorescência do pireno e sua utilização como um parâmetro empírico de polaridade de solventes, a escala *Py*.

Devido a uma variedade de interações químicas e físicas que podem ocorrer durante o tempo de vida do estado excitado de uma molécula, observa-se que o espectro de emissão é fortemente influenciado pelo ambiente no qual se encontra o composto fluorescente (fluorófo). No caso específico do pireno, o qual apresenta cinco picos de emissão em seu espectro, verifica-se um aumento significativo na intensidade de fluorescência do pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$) com o aumento da polaridade do solvente em comparação ao pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) tem servido como uma medida quantitativa da polaridade do solvente, a chamada escala *Py* ($Py = I/III$).

A avaliação de *Py*, como uma escala aceitável de polaridade de solventes, procede da correlação dos valores de I/III com os valores de E_T^N , outro parâmetro empírico de polaridade, mais bem compreendido e aceito pela comunidade científica. O experimento proposto neste trabalho, então, baseia-se na determinação dos valores de *Py* para dois grupos de solventes, próticos e apróticos, e na comparação dos mesmos com os valores de E_T^N .

O material didático produzido, envolvendo os conceitos e fundamentos da fluorescência, bem como, as informações sobre a prática em laboratório, é resultante de sugestões e dúvidas trazidas pelos alunos das turmas de Físico-Química Experimental II (2008.1 e 2008.2), do curso de graduação em Química da UFSC, os quais realizaram a prática proposta.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	vi

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 ABSORÇÃO E EMISSÃO DE LUZ.....	1
1.1.1 Absorção no UV-Vis e transições eletrônicas: excitação de elétrons	1
1.1.2 Relaxações não-radioativas e luminescência: desexcitação de elétrons	2
1.1.2.1 Processos não-radioativos de decaimento de elétrons.....	4
1.1.2.2 Processos radioativos de decaimento de elétrons.....	4
1.2 FLUORESCÊNCIA	5
1.2.1 Fluoróforos e suas características químico-estruturais	6
1.2.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência	7
1.2.3 Influência do solvente na fluorescência.....	9
1.3 FLUORESCÊNCIA DO PIRENO	10
1.4 EXPERIMENTAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA	12

2 OBJETIVOS	14
--------------------------	-----------

3 PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1 ESTUDOS SOBRE A FLUORESCÊNCIA DO PIRENO	15
3.1.1 Materiais	15
3.1.2 Metodologia e instrumentação	15
3.1.2.1 Preparo das soluções de pireno.....	15
3.1.2.2 Medidas de fluorescência	16

3.2 O PREPARO DO NOVO EXPERIMENTO E A ELABORAÇÃO DO SEU ROTEIRO	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1 ESTUDOS SOBRE A FLUORESCÊNCIA DO PIRENO	18
4.1.1 Primeira etapa: testes com solventes alcoólicos e água	18
4.1.2 Segunda etapa: separação dos solventes em próticos e apróticos	22
4.2 O PREPARO DO NOVO EXPERIMENTO E A ELABORAÇÃO DO SEU ROTEIRO	24
4.2.1 Primeiro roteiro: testes com solventes alcoólicos e água	25
4.2.2 Segundo roteiro: testes com solventes alcoólicos e água	25
4.2.3 Roteiro final: destaque à natureza pedagógica da experimentação	26
4.3 ANÁLISE DOS RELATÓRIOS DOS ALUNOS	26
5 CONCLUSÕES	28
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXOS	31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema representativo da excitação de elétrons por absorção de energia, envolvendo transições do estado eletrônico fundamental, S_0 , para diferentes níveis vibracionais do primeiro estado excitado, S_12
- Figura 2.** Diagrama de Jablonski. À esquerda, encontram-se os espectros hipotéticos de absorção e emissão de fluorescência e fosforescência, correspondentes às transições observadas no diagrama.3
- Figura 3.** Espectros hipotéticos de absorção e de fluorescência e as respectivas transições. Idealmente, cada espectro parece quase a imagem especular do outro, com a emissão de fluorescência em comprimentos de onda menores.6
- Figura 4.** Estrutura química de quatro fluoróforos.7
- Figura 5.** Espectros de fluorescência do antraceno em diclorometano em várias concentrações: 10^{-3} a 10^{-7} mol L⁻¹ (www.chemkeys.com).8
- Figura 6.** Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto fluorescente, de acordo com o princípio de Franck-Condon.9
- Figura 7.** Espectro de emissão de fluorescência do monômero do pireno em etanol.11
- Figura 8.** Estrutura química do corante de Reichardt.12
- Figura 9.** Espectros de emissão de fluorescência do pireno em soluções 1×10^{-6} mol L⁻¹ de diferentes álcoois e água, identificados na legenda ao lado direito do gráfico19

- Figura 10.** Gráfico mostrando o perfil da curva I/III *versus* o número de átomos de carbono nos diferentes solventes testados.20
- Figura 11.** Gráfico mostrando o perfil da curva E_T^N *versus* o número de átomos de carbono nos diferentes solventes testados, exceto 1-octanol.21
- Figura 12.** Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I/III *versus* os valores de E_T^N para os solventes utilizados nesta primeira etapa do trabalho, exceto 1-octanol.21
- Figura 13.** Espectros de emissão de fluorescência do pireno em soluções 1×10^{-6} mol L⁻¹ de solventes próticos e apróticos, identificados na legenda ao lado direito do gráfico.23
- Figura 14.** Gráfico dos valores de E_T^N *versus* a razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I/III para os solventes utilizados na segunda etapa deste trabalho.24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Intensidade de fluorescência das bandas I e III do pireno, valores de I/III e E_T^N para os solventes alcoólicos listados e água.....19

Tabela 2. Intensidade de fluorescência das bandas I e III do pireno, valores de I/III e E_T^N para os solventes próticos e apróticos listados.....23

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

UV-VIS	Ultravioleta e visível
v	Nível vibracional
S_0	Estado eletrônico fundamental
S_1	Primeiro estado eletrônico excitado
S_2	Segundo estado eletrônico excitado
S_n	Estado eletrônico excitado
T_1	Primeiro estado excitado tripleto
T_2	Segundo estado excitado tripleto
S-S	Transição singleto-singleto
T-T	Transição tripleto-tripletto
S-T	Transição singleto-tripletto
S_1'	Estado excitado de Franck-Condon
S_0'	Estado fundamental de Franck-Condon
h	Constante universal de Planck
ν_a	Frequência da radiação absorvida
ν_f	Frequência da radiação de emissão de fluorescência
ν_p	Frequência da radiação de emissão de fosforescência
I, II...V	Cada número refere-se respectivamente a uma das cinco bandas vibrônicas do espectro de emissão $\pi^* \rightarrow \pi$ do monômero do pireno.
$Py = I / III$	A escala Py , derivado de “pyrene”, é um parâmetro empírico de polaridade do solvente. É baseada no valor da razão das intensidades de emissão das bandas vibrônicas I e III do pireno em cada solvente.
E_T^N	Parâmetro empírico de polaridade de Reichardt normalizado
$\lambda_{m\acute{a}x}$	Comprimento de onda de máxima emissão
ϕ_f	Rendimento quântico de fluorescência
τ	Tempo de vida de fluorescência

1 INTRODUÇÃO

Este trabalho trata do desenvolvimento de um novo experimento para disciplinas de Físico-Química Experimental de cursos de graduação em Química, abordando o fenômeno da **fluorescência**. Em vista disso, faz-se, introdutoriamente, uma breve explanação dos conceitos e conhecimentos científicos a ele relacionados, bem como, de alguns aspectos referentes à experimentação em Físico-Química.

1.1 ABSORÇÃO E EMISSÃO DE LUZ

Muito do conhecimento atual acerca da estrutura molecular e da interação de moléculas com seus vizinhos é baseado em informações derivadas de espectros de absorção e/ou emissão gerados quando a radiação eletromagnética interage com os átomos ou moléculas da matéria. Estas investigações espectroscópicas estão intimamente vinculadas às leis da mecânica quântica, as quais descrevem os diferentes níveis moleculares de energia: eletrônico, vibracional e rotacional; assim como, os mecanismos de excitação e desexcitação de elétrons por meio da absorção e emissão de luz, por exemplo.

Na sequência, abordam-se, sucintamente, alguns aspectos teóricos relacionados à absorção de luz (radiação ultravioleta ou visível, especificamente) e aos processos de “eliminação” da energia absorvida pelas moléculas.

1.1.1 Absorção no UV-Vis e transições eletrônicas: excitação de elétrons

Tratando-se, em específico, de processos de absorção no ultravioleta ou visível (UV-Vis), os espectros destacam, preponderantemente, as transições entre

os diferentes níveis eletrônicos de energia, ou ainda, transições envolvendo os níveis vibracionais de dois estados eletrônicos (Figura 1).

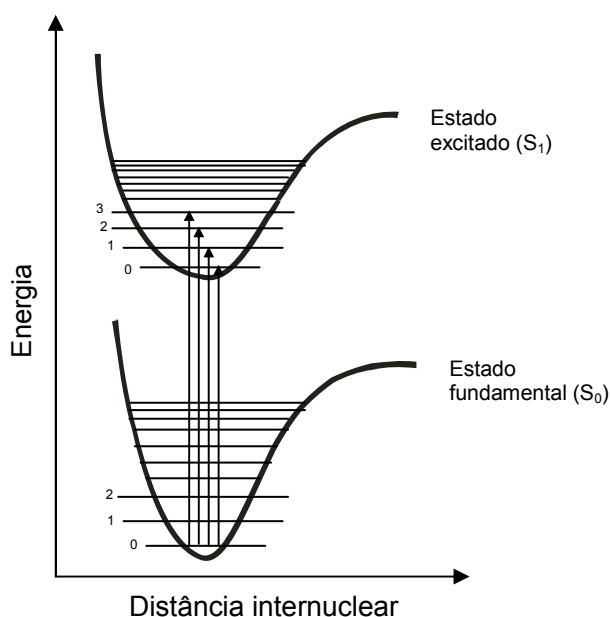


Figura 1. Esquema representativo da excitação de elétrons por absorção de energia, envolvendo transições do estado eletrônico fundamental, S₀, para diferentes níveis vibracionais do primeiro estado excitado, S₁.

Quando um fóton de UV-Vis – com energia suficiente para excitar um elétron do estado fundamental (S₀) para um nível energético superior (S_n) – é absorvido, ocorre uma transição entre esses estados. Cada um desses níveis eletrônicos possui vários níveis vibracionais para os quais as transições podem ocorrer. Na Figura 1, o fóton de menor energia absorvido pela molécula tem energia igual à diferença entre S₀ e o primeiro estado excitado (S₁). Todavia, fótons mais energéticos também podem ser absorvidos, resultando em transições para níveis energéticos superiores a S₁.

Normalmente, o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletronicamente excitado, pela absorção de luz, é da ordem de 10⁻¹⁵s¹.

1.1.2 Relaxações não-radioativas e luminescência: desexcitação de elétrons

Após a absorção, caso não ocorram reações fotoquímicas, as moléculas excitadas tendem a se livrar da energia em excesso de diversas maneiras. Os

processos de evolução mais comum envolvem a dissipação na forma de calor pela colisão com moléculas vizinhas (*relaxações não-radioativas*). Entretanto, outras moléculas também emitem parte da energia de excitação como luz (*transições radioativas*), cujo processo é definido como **luminescência**².

O Diagrama de Jablonski, ilustrado abaixo (Figura 2), representa os diferentes tipos de transições, radioativas e não-radioativas³, que podem ocorrer após as moléculas absorverem luz ($S_0 + h\nu_a \rightarrow S_n$).

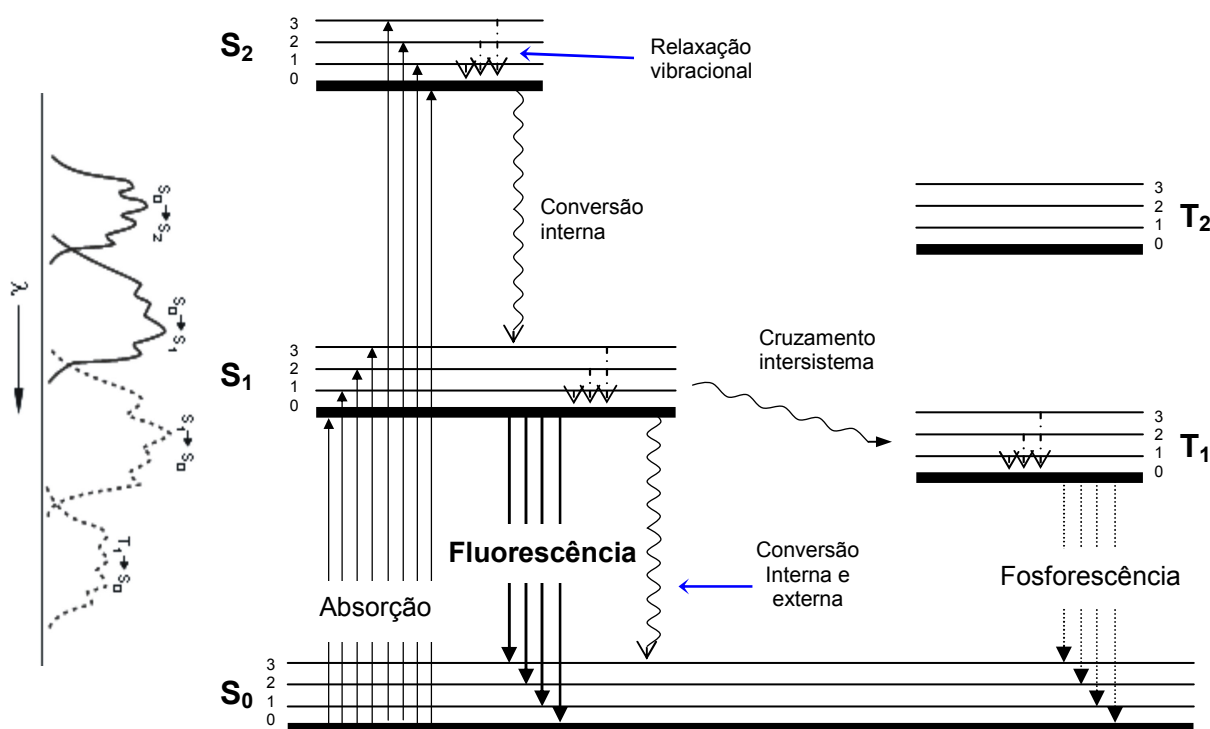


Figura 2. Diagrama de Jablonski. À esquerda, encontram-se os espectros hipotéticos de absorção e emissão de fluorescência e fosforescência, correspondentes às transições observadas no diagrama.

Transições radioativas

$$S_1 \rightarrow S_0 + h\nu_f (\sim 10^{-9} \text{ a } 10^{-8} \text{ s})$$

$$T_1 \rightarrow S_0 + h\nu_p (\text{ms a s})$$

Relaxações não-radioativas⁴

$$S_n \rightarrow S_1 (\sim 10^{-12} \text{ s})$$

$$S_1 \rightarrow T_1$$

$$S_1 \rightarrow S_0$$

$$T_1 \rightarrow S_0$$

1.1.2.1 Processos não-radioativos de decaimento de elétrons

Os processos não-radioativos para a desexcitação de moléculas excitadas envolvem, basicamente⁵:

- relaxação vibracional – quando o “excesso” de energia vibracional é perdido para o meio na forma de calor, levando o elétron ao mais baixo nível vibracional do estado eletrônico excitado ($S_1^{v=3} \rightarrow S_1^{v=2}$, $S_1^{v=2} \rightarrow S_1^{v=1}$, $S_1^{v=1} \rightarrow S_1^{v=0}$, por exemplo);
- conversão interna – quando o elétron decai, sem emitir luz, para os níveis vibracionais mais energéticos, porém, de estados eletrônicos de menor energia àquele para o qual foi excitado ($S_2^{v=0} \rightarrow S_1^{v=3}$, $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=3}$, por exemplo). Este tipo de decaimento só acontece entre níveis de mesma multiplicidade (S-S, T-T);
- conversão externa – quando a desativação de estados eletrônicos excitados envolve interações e transferência de energia entre a molécula excitada e o solvente ou outros solutos da solução;
- cruzamento intersistemas – quando o spin do elétron excitado é invertido, permitindo a migração deste para um estado tripleto. Trata-se, portanto, de transições entre estados de diferentes multiplicidades (S-T), proibidas pela regra da conservação de spin ($S_1^{v=0} \rightarrow T_1^{v=3}$, $S_1^{v=0} \rightarrow T_1^{v=2}$, $S_1^{v=0} \rightarrow T_1^{v=1}$, $S_1^{v=0} \rightarrow T_1^{v=0}$, por exemplo). Este processo ocorre, preponderantemente, após a relaxação de um nível mais energético para o primeiro nível vibracional de S_1 (por conversão interna).

Todas essas formas de decaimento não-radioativo competem com os processos radioativos e, inclusive, limitam a luminescência a um número reduzido de sistemas, uma vez que minimizam o tempo de vida dos estados excitados (são rotas mais rápidas e favoráveis de desexcitação). Todavia, em determinadas situações, tais processos podem ser complementares⁵.

1.1.2.2 Processos radioativos de decaimento de elétrons

Quanto aos mecanismos luminescentes de “eliminação” da energia absorvida, ou seja, com emissão de fótons, dois fenômenos podem ocorrer⁴:

- a **fluorescência** – ocasionada por transições ópticas de S_1 para os níveis vibracionais do estado fundamental ($S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=3}$, $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$, $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=1}$, $S_1^{v=0} \rightarrow T_1^{v=0}$, por exemplo); e

- a **fosforescência**, caracterizada por transições ópticas de T_1 para os níveis vibracionais de S_0 (por exemplo, $T_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=3}$, $T_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$, $T_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=1}$, $T_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), as quais são possíveis ante um *cruzamento intersistemas* precedente que dá origem a elétrons excitados no estado tripleto.

Analogamente à absorção, as bandas de espectros de emissão de fluorescência estão estreitamente relacionadas com as transições do primeiro nível eletrônico excitado (S_1) para os diferentes níveis vibracionais do estado fundamental (S_0). Já os espectros de fosforescência indicam as transições a partir estado tripleto (T_1). Observe os espectros hipotéticos na Figura 2, lado esquerdo.

1.2 FLUORESCÊNCIA

Conforme já mencionado, a **fluorescência** de uma molécula é o decaimento de um estado eletrônico excitado para o estado fundamental, de mesma multiplicidade (singleto/singleto), por meio de emissão espontânea de fótons⁴. Quando o tempo de vida do estado singleto eletronicamente excitado S_1 é suficientemente longo para que as moléculas atinjam o seu equilíbrio térmico, a emissão de fluorescência ocorre majoritariamente do nível vibracional zero ($S_1^{v=0}$ “para baixo”)⁶. Através de um cruzamento intersistemas, entretanto, é possível se verificar o fenômeno da *fosforescência* ($T_1 \rightarrow S_0 + h\nu_p$).

Empiricamente, a diferença destes dois processos luminescentes encontra-se, basicamente, no tempo de persistência da radiação emitida espontaneamente: na fluorescência, a emissão de fótons se dá dentro de um curto intervalo de tempo, porém mensurável, da ordem de 10^{-9} a 10^{-8} s após a absorção⁴; na fosforescência, a emissão espontânea pode persistir até horas, embora segundos ou microssegundos sejam os casos mais característicos³. Este último fenômeno é “lento” porque envolve uma transição proibida pelo spin, em que o tempo do estado tripleto excitado é bastante longo (veja o Diagrama de Jablonski, na Figura 2).

A emissão fluorescente costuma apresentar comprimentos de onda maiores (de menor energia) que os da radiação absorvida. Isso porque, imediatamente depois à absorção, os elétrons excitados na molécula já começam a declinar devido aos processos de decaimento não-radiativos. Aliás, a própria

“eficiência” da fluorescência de uma molécula está condicionada a características estruturais e ambientais que possibilitem uma emissão de luz rápida o suficiente em relação às relaxações não-radioativas⁵. Isto, inclusive, será abordado mais detalhadamente na sequência.

A figura abaixo (Figura 3) compara dois espectros hipotéticos, de absorção e emissão, podendo-se visualizar esse deslocamento para comprimentos de onda menos energéticos. Contudo, apesar de ser mais rara, a fluorescência também pode ocorrer com o mesmo comprimento de onda da radiação absorvida, sendo chamada de fluorescência ressonante⁷.

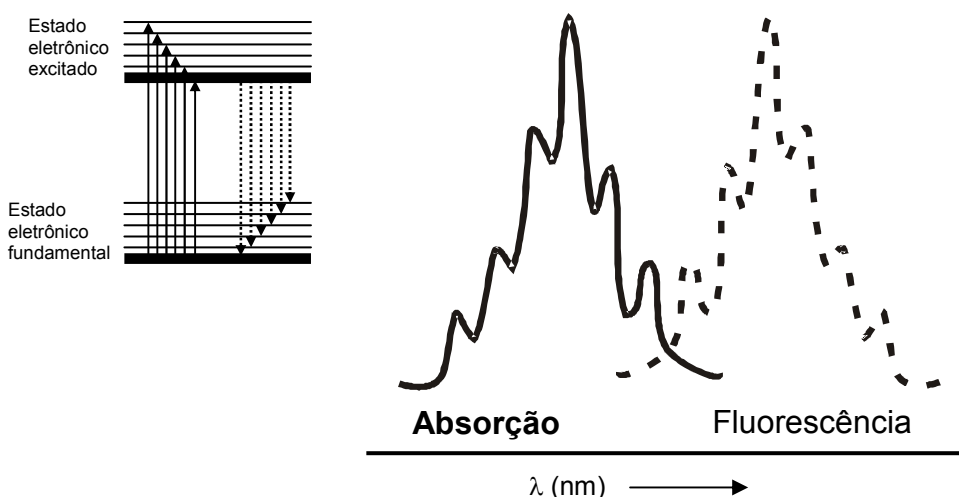


Figura 3. Espectros hipotéticos de absorção e de fluorescência e as respectivas transições. Idealmente, cada espectro parece quase a imagem especular do outro, com a emissão de fluorescência em comprimentos de onda menores.

1.2.1 Fluoróforos e suas características químico-estruturais

Compostos que apresentam características fluorescentes são chamados de *fluoróforos*. Em geral, suas moléculas possuem elétrons delocalizados em ligações duplas conjugadas, indicando que a fluorescência de uma substância depende de sua estrutura molecular e, na maioria das vezes, está associada ao sistema π ⁴. Observa-se, empiricamente, que a fluorescência é mais encontrada em compostos nos quais a transição de mais baixa energia é do tipo $\pi^* \rightarrow \pi$. Este fato pode ser compreendido pelo maior coeficiente de absorção deste tipo de transição

comparativamente às transições do tipo $\pi^* \rightarrow n$ (da ordem de 100 a 1000 vezes maior)⁵.

São exemplos a rodamina B, a fluoresceína, o antraceno e o pireno (Figura 4).

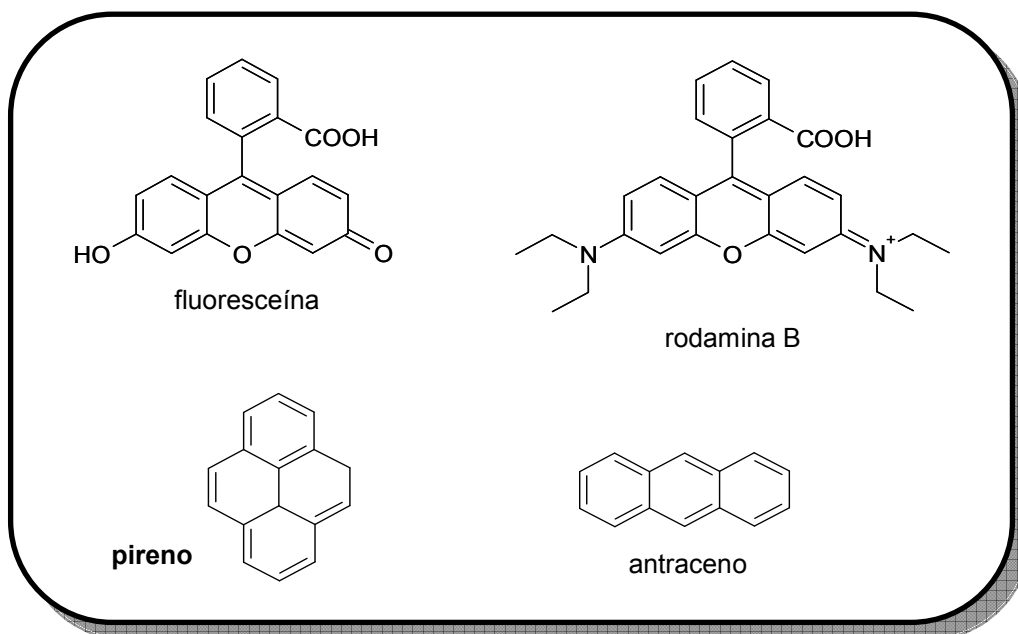


Figura 4. Estrutura química de quatro fluoróforos.

Outro aspecto constatado experimentalmente refere-se à estrutura rígida: moléculas com rigidez estrutural fluorescem mais. A falta de rigidez provavelmente causa um aumento na taxa de conversão interna, diminuindo a fluorescência⁵.

1.2.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência

Assim como a absorção de energia pode ser detectada pela técnica de espectroscopia de absorção eletrônica (UV-Vis), o fenômeno da fluorescência também pode ser “quantificado” pela espectroscopia de emissão, a partir de um gráfico da intensidade de fluorescência *versus* o comprimento de onda de emissão, em nanômetros ou número de ondas. De tal sorte, a **espectroscopia de fluorescência** é a técnica que detecta o espectro da radiação emitida por um átomo ou molécula, quando esta relaxa do estado excitado (preponderantemente, S_1) para os diferentes níveis vibracionais do estado fundamental (S_0).

Dois importantes parâmetros são obtidos do espectro de fluorescência: o comprimento de onda de máxima emissão ($\lambda_{\text{máx}}$) e a intensidade relativa de emissão². Veja o exemplo abaixo (Figura 5) referente ao espectro de fluorescência do antraceno, cujo $\lambda_{\text{máx}}$ é, aproximadamente, 408 nm.

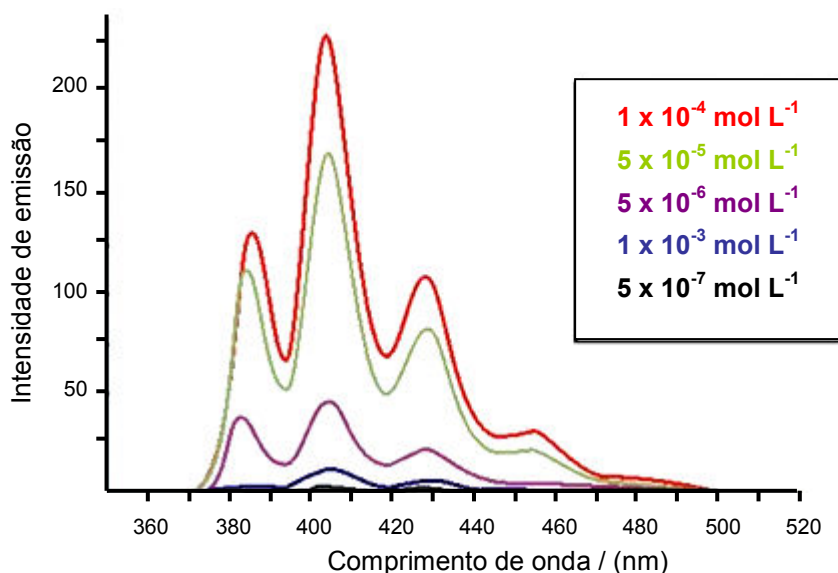


Figura 5. Espectros de fluorescência do antraceno em diclorometano em várias concentrações: 10^{-3} a 10^{-7} mol L⁻¹ (www.chemkeys.com).

Ademais, outros parâmetros quantitativos relevantes são: o rendimento quântico (ϕ_f) – relação entre o número de moléculas que sofrem fluorescência e o número total de moléculas excitadas⁸ – e o tempo de vida de fluorescência (τ).

São características “atrativas” desta técnica: sua alta sensibilidade de detecção, comparativamente à espectroscopia de absorção, sua seletividade e sua **sensibilidade ao meio no qual o fluoróforo se encontra**. Em contrapartida, conforme mencionado na seção anterior, esta técnica se limita a um número relativamente pequeno de estruturas moleculares que apresentam emissão fluorescente após a absorção de fótons⁵.

Nos últimos anos, estudos envolvendo a espectroscopia de fluorescência têm crescido imensamente, principalmente nas áreas da química, bioquímica e medicina, trazendo numerosas contribuições em análise de proteínas, membranas, ácidos nucleicos e complexos macromoleculares. Essa extensa aplicação deve-se, em grande parte, justamente à sensibilidade do fenômeno relativamente ao

ambiente do fluoróforo, ou seja, à influência do solvente e do meio solubilizante sobre o espectro de fluorescência.

1.2.3 Influência do solvente na fluorescência

Além da estrutura molecular do fluoróforo, algumas propriedades físico-químicas do seu ambiente também podem determinar a “eficiência” da fluorescência de uma molécula, influenciando, por conseguinte, na intensidade e na posição do comprimento de onda de emissão. De acordo com a literatura^{2,8}, os principais fatores de influência são: temperatura, oxigênio dissolvido, pH e efeitos do solvente, merecendo este último destaque.

Durante o tempo de vida do estado excitado, uma variedade de interações químicas e físicas pode ocorrer antes da emissão, alterando as características espectrais do composto fluorescente, como por exemplo, aparecimento de novas bandas, deslocamento no comprimento de onda de emissão e mudanças na intensidade de emissão⁹. São estas alterações que têm distinguido a fluorescência dentre as técnicas ópticas de investigação de microambientes¹⁰, de estudo das interações intermoleculares em fase líquida¹ e para determinação experimental da polaridade de solventes¹¹. Veja o esquema representativo abaixo (Figura 6)¹.

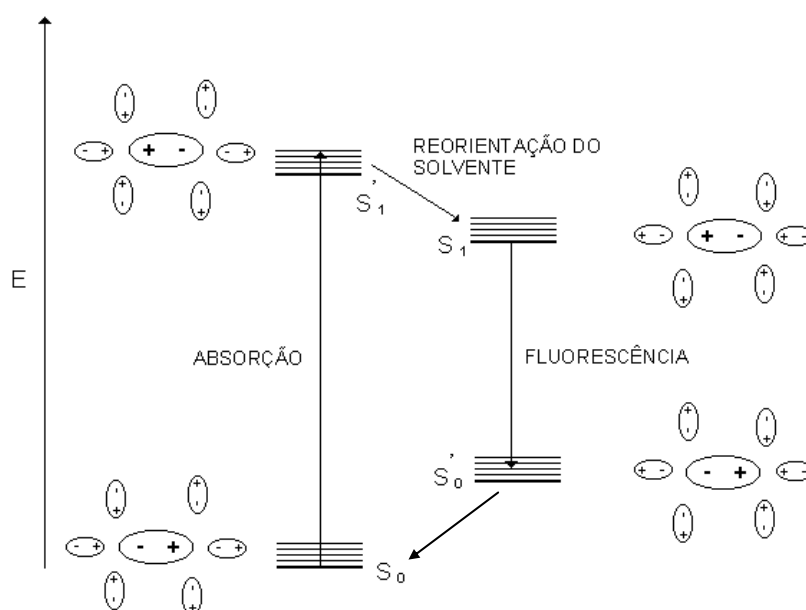


Figura 6. Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto fluorescente, de acordo com o princípio de Franck-Condon.

Conforme se observa na Figura 6, o solvente pode ter interações diferentes com o soluto no estado fundamental (S_0) e nos estados excitados (S'_1 e S_1). Isso porque o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletrônico excitado (cerca de 10^{-15} s) é muito menor do que o tempo necessário para realizar vibrações ou rotações (cerca de 10^{-12} a 10^{-10} s) – princípio de Franck-Condon. Como as moléculas do solvente não têm tempo suficiente para se reorganizarem durante a transição, a absorção ocorre em um ambiente característico do soluto solvatado no estado fundamental (S_0). Antes da emissão de fluorescência ocorrer, porém, se o tempo de vida da molécula excitada do soluto é grande o bastante, as moléculas do solvente se reorganizam e este novo ambiente (S_1) é preservado na transição radioativa ($S_1 \rightarrow S'_0$). Por analogia, após a emissão, existe um estado fundamental de Franck-Condon (S'_0) que persiste brevemente até as moléculas do solvente voltarem a se reorganizar ao estado fundamental original (S_0). É a solvatação diferencial desses dois estados (S_0 e S_1) o fator responsável pela influência do solvente, bem como, de agregados micelares sobre o espectro de emissão de fluorescência¹.

1.3 FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

Um exemplo particular bem estudado, onde o espectro de fluorescência é influenciado pelo solvente e microambiente, é o caso do **pireno**. O espectro de emissão do monômero deste composto exhibe cinco bandas vibrônicas principais bem resolvidas (Figura 7) entre 370 e 400 nm, chamadas **I...V** em ordem progressiva (a banda $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$ é chamada de **I**, e assim por diante)^{1,10,11}.

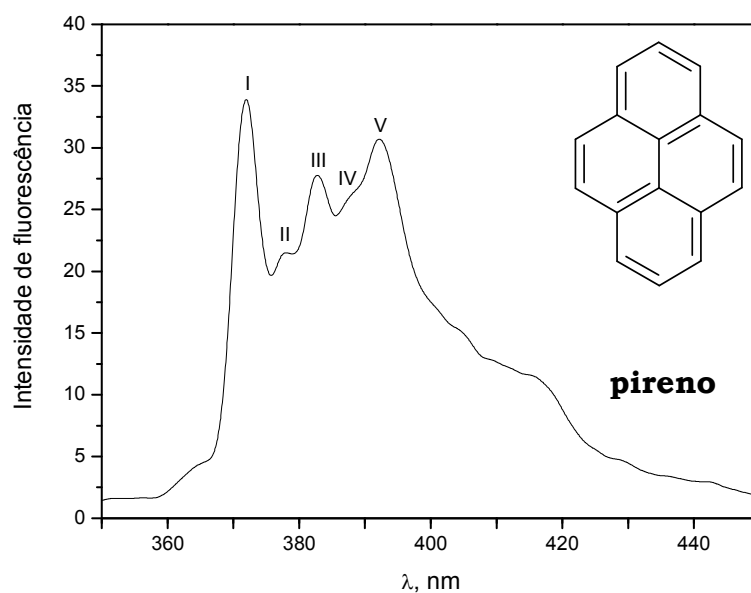


Figura 7. Espectro de emissão de fluorescência do monômero do pireno em etanol.

O pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), todavia, mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) tem servido como uma **medida quantitativa da polaridade do solvente**, a chamada **escala *Py*** ($Py = I / III$). Nakajima¹² (1971) foi o primeiro a relatar a influência do solvente no espectro de fluorescência do pireno, seguido por Kalyanasundaram e Thomas¹³ (1977). Todavia, somente em 1982, Winnik e Dong¹¹ propuseram uma escala de polaridade do solvente a partir da fluorescência do pireno.

Atualmente, a escala empírica de polaridade do solvente mais utilizada é a E_T^N , a qual se baseia em mudanças no espectro de absorção UV/Vis do 2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)-1-fenolato ou corante de Reichardt (Figura 8). O parâmetro E_T^N é uma escala normalizada que usa o tetrametilsilano (TMS), $E_T^N=0$, e a água, $E_T^N=1$, como os solventes dos extremos de referência¹⁴.

Pelos valores de E_T^N serem mais compreendidos e reconhecidos entre os químicos, a correlação destes com os valores de *Py* foi essencial para a proposição da escala do pireno como um parâmetro empírico de polaridade, em 1982, quando 62 solventes puros foram analisados^{1,11}.

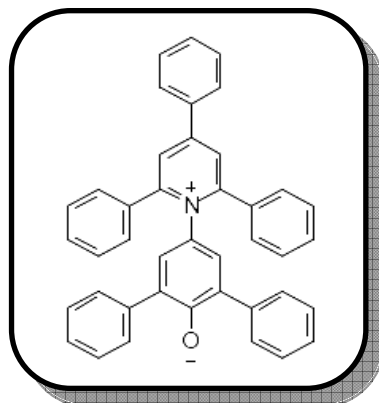


Figura 8. Estrutura química do corante de Reichardt.

1.4 EXPERIMENTAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA

Conforme artigo publicado pela Sociedade Brasileira de Química (SBQ), em 2002¹⁵, sobre o desenvolvimento da Físico-Química no país, nos últimos 25 anos, houve uma importante consolidação de diversos grupos de pesquisa desta área, principalmente por causa da incorporação de avançada instrumentação, que tem permitido uma abordagem cada vez mais ao nível molecular. Um caso típico é a introdução crescente de técnicas espectroscópicas modernas no estudo de microambientes, de interações intermoleculares, na bioquímica e medicina, trazendo numerosas contribuições em análise de proteínas, membranas, ácidos nucleicos e complexos macromoleculares¹⁶.

Se este é o perfil do cenário da pesquisa nacional, em Físico-Química, os cursos de graduação em Química não podem negligenciar este fato. Pelo contrário, precisam incorporar em seus currículos, especificamente nas disciplinas de Físico-Química Experimental, propostas experimentais que abordem metodologias mais atuais, superando as técnicas experimentais clássicas.

De modo geral, no ensino prático da interação da radiação eletromagnética com a matéria, há uma grande quantidade de experimentos envolvendo a espectroscopia de absorção, largamente usada em estudos de transições eletrônicas, rotações e vibrações moleculares³. Basta verificar os

principais livros-texto^{17,18,19} e jornais* desta área [Experimentos em Físico-Química] para se fazer tal afirmação. A adoção de uma ou outra técnica é determinada por considerações de caráter prático: simplicidade, baixo custo, disponibilidade de material (espectrômetros, por exemplo) e adequação à carga horária (em média 4h/aula). Concernente à espectroscopia de emissão, especificamente à fluorescência, as propostas pedagógicas encontradas na literatura tradicional^{17,18,19} são poucas – em contraposição ao crescente número de artigos publicados envolvendo os fundamentos e aplicações das técnicas de fluorescência em pesquisas. Shane e colaboradores²⁰ destacam o interesse na promoção de experiências contemporâneas, incluindo experimentos de fluorescência nos laboratórios de Físico-Química.

Além de poucos, os experimentos clássicos sobre fluorescência geralmente envolvem: medida de rendimento quântico, de tempo de vida de fluorescência e análise de espectros de emissão. Não há real problematização do uso aplicado das substâncias fluorescentes, como é o caso do pireno. Mais que cumprir com sua função pedagógica em auxiliar o aluno na compreensão do fenômeno da fluorescência e os conceitos a que se refere, o presente trabalho pretende expor a relevância do que se está sendo aprendido.

* **Journal of Chemical Education** e **Química Nova**, por exemplo, nas seções *In the Laboratory* e *Educação*, respectivamente.

2 OBJETIVOS

Apesar dos estudos envolvendo compostos fluorescentes serem crescentes nos laboratórios de pesquisa nacional e internacional, na literatura são poucos os experimentos propostos para as disciplinas de Físico-Química, envolvendo a técnica de fluorescência para determinação de propriedades físico-químicas de solventes ou análise de microambientes. De tal sorte, como *objetivo geral*, por meio deste trabalho pretende-se propor um novo experimento didático-pedagógico envolvendo a espectroscopia de emissão de fluorescência do pireno e sua utilização para determinação de um parâmetro empírico de polaridade de solventes, a escala P_y .

Pelo estudo da fluorescência do pireno, têm-se, então, como *objetivos específicos*:

- investigar a influência de solventes de diferentes polaridades sobre a fluorescência do pireno;
- determinar os valores de P_y para alguns solventes, separados em próticos e apróticos;
- correlacionar os valores do parâmetro empírico de polaridade, P_y , com a polaridade da escala normalizada (E_T^N), através de representação gráfica.

Quanto aos aspectos pedagógicos deste trabalho, são também *objetivos específicos*:

- desenvolver material didático-pedagógico envolvendo os conceitos e fundamentos da fluorescência, bem como, as informações referentes ao experimento laboratorial (roteiro da prática);
- aplicar a prática sugerida e seu roteiro final nas turmas da disciplina de Físico-Química Experimental II, do Curso de Química da UFSC;
- avaliar os relatórios dos alunos que realizaram o experimento, no que tange à apreensão dos conhecimentos químicos envolvidos e ao cumprimento dos objetivos pedagógicos da experimentação.

3 PARTE EXPERIMENTAL

Neste trabalho, caracterizaram-se como experimentais tanto a metodologia e instrumentação envolvidas nos estudos da fluorescência do pireno quanto a elaboração do material didático para a nova prática de Físico-Química Experimental e sua aplicação nas turmas da graduação em Química.

3.1 ESTUDOS SOBRE A FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

3.1.1 Materiais

Os seguintes solventes utilizados foram comprados de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia: metanol, etanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-hexanol, 1-octanol, n-hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona. Com exceção do 1-hexanol e 1-octanol, os demais solventes foram disponibilizados pelo laboratório de Físico-Química Experimental da graduação do curso de Química da UFSC. Menciona-se este fato, uma vez que o presente trabalho envolve a proposição de um novo experimento para disciplinas de Físico-Química Experimental, pelo que se buscou manter as condições relativas aos laboratórios de graduação desde a seleção dos materiais.

O pireno empregado também foi comprado de fontes comerciais e não purificado antes de seu uso.

3.1.2 Metodologia e instrumentação

3.1.2.1 Preparo das soluções de pireno

A metodologia base do trabalho envolveu a *espectroscopia de emissão de fluorescência do monômero do pireno*. Assim, para evitar a formação de microcristais de pireno e a formação intermolecular do excímero^{†,1}, as medidas de fluorescência foram feitas em soluções de concentração $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

O seguinte procedimento foi seguido para todos os experimentos: uma solução estoque de pireno ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foi preparada em etanol. Com uma pipeta graduada, 1,0 mL desta solução foi transferido para um balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com etanol. A partir desta nova solução estoque, com a concentração fixada em $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, o pireno foi solubilizado nos diferentes solventes para os quais se analisou a polaridade: água destilada, metanol, etanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-hexanol, 1-octanol, n-hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona.

3.1.2.2 Medidas de fluorescência

Para as medidas de fluorescência propriamente ditas empregou-se um espectrofluorímetro Hitachi F-4500[‡] equipado com uma cela de quartzo de 10 milímetros termostatizada a 25°C. As fendas de excitação e emissão do monocromador foram ajustadas para 2,5 nm, seguindo orientação de Acree, descrita na dissertação de mestrado de Marcos André do Rego Silva¹. As amostras foram excitadas em 336 nm e os espectros de emissão foram corridos de 360 a 450 nm, considerando-se que a faixa típica das bandas I a V de fluorescência do pireno, conforme a literatura, fica entre 370 e 400 nm.

As intensidades de fluorescência das bandas I e III do pireno foram coletadas. E a razão I/III foi calculada pela relação da intensidade máxima dos picos em 372,8 nm (I) e 384,0 nm (III), para cada solvente do pireno.

Numa primeira etapa, um gráfico dos valores de Py versus E_T^N foi montado, bem como, um gráfico de I/III versus o número de átomos de carbono da estrutura química dos seguintes solventes: água destilada, metanol, etanol,

[†] Ocorre numa concentração de 10^{-2} a $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

[‡] O espectrofluorímetro usado neste trabalho foi disponibilizado pelo Laboratório 205 do Departamento de Química da UFSC. O laboratório de Físico-Química da graduação também possui um aparelho para tais medidas; porém, na realização deste trabalho, o uso do mesmo ainda **NÃO** era disponível aos alunos.

1-propanol, 1-butano, 1-hexanol e 1-octanol. Numa segunda etapa, novamente um gráfico de E_T^N *versus* os valores de P_y foi plotado, porém, para outros solventes: água destilada, etanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-hexanol, acetato de etila, n-hexano, diclorometano e acetona.

3.2 O PREPARO DO NOVO EXPERIMENTO E A ELABORAÇÃO DO SEU ROTEIRO

Após os testes envolvendo a fluorescência do pireno, o novo experimento foi proposto para as turmas da disciplina de Físico-Química Experimental II (QMC 5409), do Curso de Química da UFSC.

No primeiro semestre de 2008, dois roteiros preliminares foram aplicados na turma 729B. O roteiro final foi aplicado nas turmas do segundo semestre de 2008, 729A e 729B. As sugestões e dúvidas dos alunos foram anotadas para devidas considerações.

Foi recolhido um relatório das equipes da turma 729B, 2008.2, referente ao questionário constante no roteiro da prática.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na seqüência, três tipos de dados serão tratados como resultados deste trabalho e, portanto, discutidos: 1) aqueles obtidos nos estudos sobre a fluorescência do pireno e a escala *Py* de polaridade; 2) as observações referentes ao preparo do novo experimento para a disciplina de Físico-Química Experimental, que inclui a elaboração do roteiro da prática; e 3) a análise dos relatórios entregues pelos alunos, no que tange aos conhecimentos por eles apreendidos.

A discussão destes dados será realizada em seções distintas somente por uma questão didática, embora, factualmente, estejam interligados.

4.1 ESTUDOS SOBRE A FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

4.1.1 Primeira etapa: testes com solventes alcoólicos e água

A seguir, os espectros de fluorescência do pireno em água, metanol, etanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-hexanol e 1-octanol (Figura 9) e a relação entre I/III e o número de átomos de carbono dos solventes empregados (Figura 10).

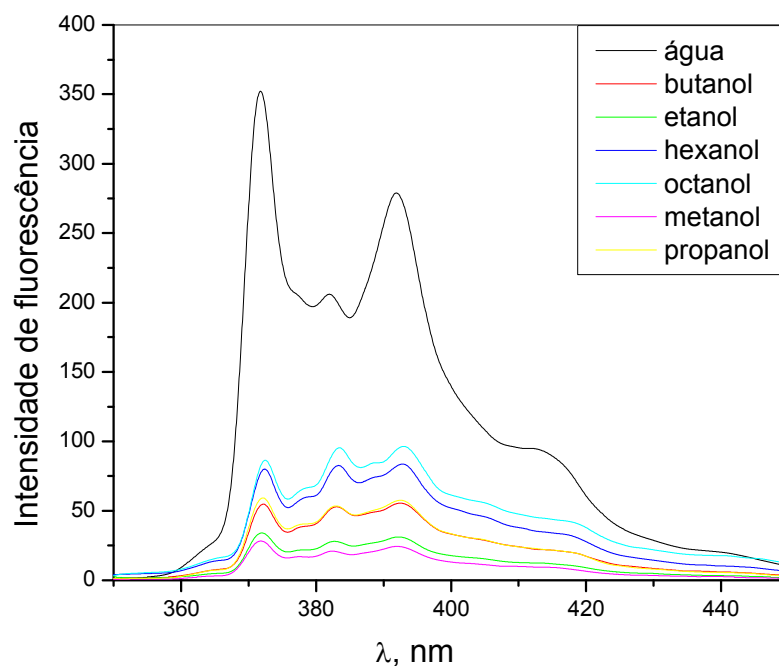


Figura 9. Espectros de emissão de fluorescência do pireno em soluções 1×10^{-6} mol L^{-1} de diferentes álcoois e água, identificados na legenda ao lado direito do gráfico.

Tabela 1. Intensidade de fluorescência das bandas I e III do pireno, valores de I/III e E_T^N para os solventes alcoólicos listados e água.

Solvente	I	III	I/III ^a	I/III ^b	E_T^N ^c
água	360,344	195,866	1,83975	1,87	1,000
metanol	29,491	19,999	1,47462	1,35	0,762
etanol	35,908	27,928	1,28573	1,18	0,654
1-propanol	63,779	54,203	1,17667	1,09	0,617
1-butanol	59,163	53,843	1,09881	1,06	0,602
1-hexanol	87,806	86,219	1,01841	---	0,559
1-octanol	94,842	100,074	0,94772	0,92	---

^aEste trabalho. ^bRef. 11. Ref.14.

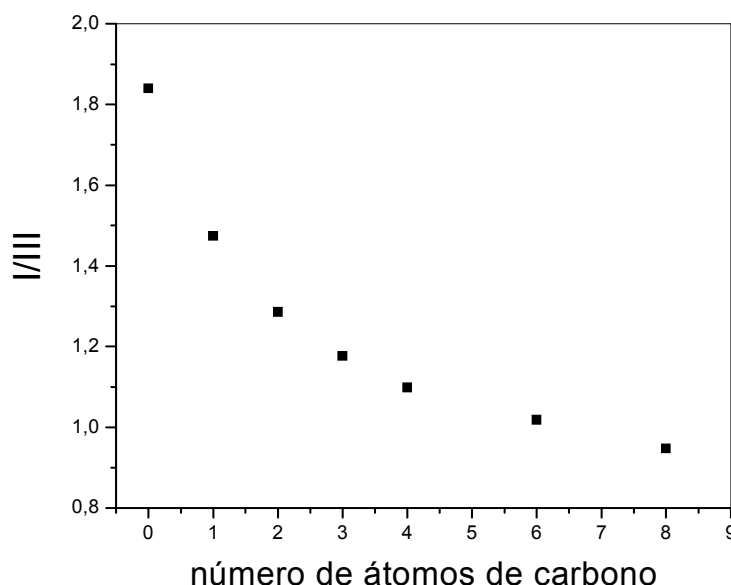


Figura 10. Gráfico mostrando o perfil da curva I/III *versus* o número de átomos de carbono nos diferentes solventes testados.

De acordo com o esperado teoricamente, observou-se que o pico I, referente à transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$, teve uma redução significativa de intensidade com a diminuição da polaridade do solvente em comparação com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Ou ainda o inverso: aumentou com o aumento da polaridade. Segundo a literatura¹, o mecanismo exato de como os solventes polares aumentam a intensidade das transições vibrônicas ainda hoje não é completamente compreendido. Entretanto, sabe-se que as fortes perturbações no espectro de fluorescência do pireno são devido a algum mecanismo de interação específico soluto-solvente dipolo-dipolo (por solvatação diferencial). Aliás, nesta primeira etapa, somente pôde-se comparar os valores de P_y , uma vez que todos os solventes são classificados como próticos, ou seja, podem doar prótons para formar ligação de hidrogênio.

Pelo gráfico da Figura 10, averiguou-se que não existe uma proporcionalidade entre o aumento do número de carbonos na estrutura molecular e a polaridade empírica dos solventes, dada pela escala de fluorescência do pireno. Pelo contrário, observou-se uma redução, aparentemente, exponencial dos valores de I/III com a expansão linear da cadeia carbônica. Tal comportamento também é visualizado para outro parâmetro empírico de polaridade, como por exemplo, os valores de E_T^N (Figura 11).

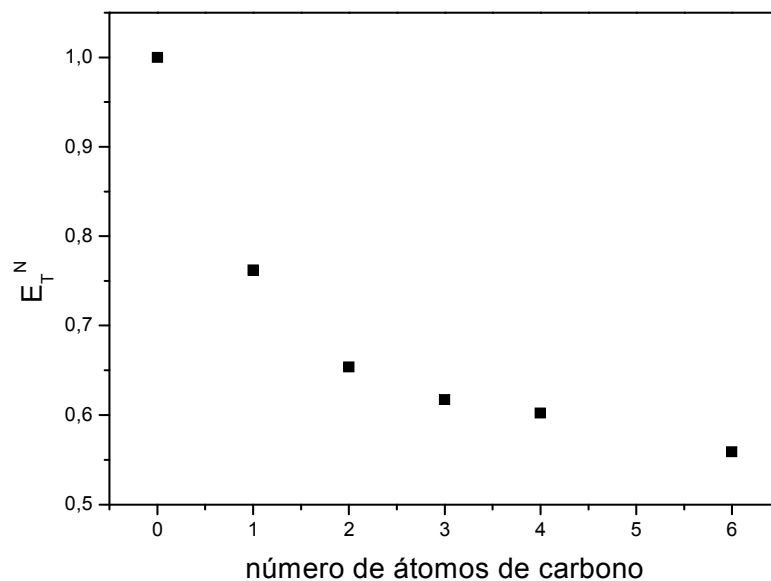


Figura 11. Gráfico mostrando o perfil da curva E_T^N *versus* o número de átomos de carbono nos diferentes solventes testados, exceto 1-octanol.

Dado o perfil similar das curvas das Figuras 10 e 11, já seria possível presumir uma proporcionalidade entre os valores de I/III e E_T^N , no que tange à polaridade dos solventes. Isso é observável no gráfico abaixo, no qual o aumento de polaridade nos valores de P_y corresponde a um aumento de polaridade na escala E_T^N (Figura 12).

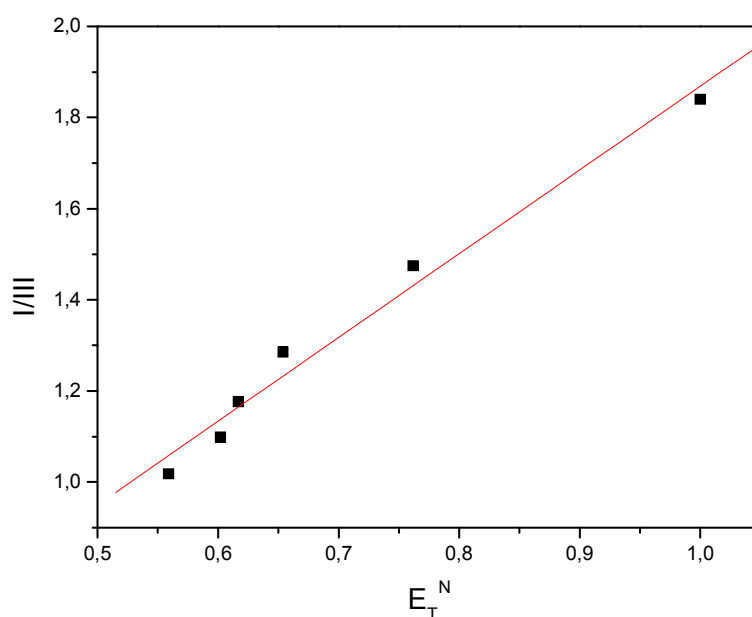


Figura 12. Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I/III *versus* os valores de E_T^N para os solventes utilizados nesta primeira etapa do trabalho, exceto 1-octanol.

Segundo Dong e Winnik, os pesquisadores que propuseram a escala P_y , a correlação dos valores de I/III como os valores de E_T^N é de extrema importância pelo fato destes últimos serem reconhecidos como uma das escalas de polaridade empírica mais facilmente compreendidas. Assim, uma relação linear entre estes dois parâmetros, como aquela encontrada neste trabalho, confirma a possibilidade dos valores de I/III constituir uma escala de polaridade para solventes, a escala pireno ou P_y ($P_y = I/III$). Segundo Marcos André do Rego Silva, em sua Dissertação de Mestrado em Química:

Apesar disso, pouco esforço tem sido feito para tornar popular o uso da escala P_y , devido ao fato de que diversas tentativas de correlacionar experimentalmente os valores I/III com outras propriedades do solvente não terem obtido sucesso. Esse é um dos principais motivos pelo qual a grande maioria dos trabalhos envolvendo o pireno, ao invés de utilizá-lo como uma escala de polaridade fiel, utilizam-no como uma sonda para estudos do microambiente, demonstrando ser uma poderosa ferramenta para tal fim (p.48 e 49).

Quanto ao experimento que se propõe neste trabalho, a afirmação de Silva não o prejudica, uma vez que seu objetivo principal não é validar a escala P_y para determinação da polaridade de solventes. Seu objetivo maior é estudar o fenômeno da fluorescência, por meio de um caso aplicado.

Foram a partir destes resultados, com álcoois e água, que se elaborou a primeira versão do roteiro da prática proposta para disciplina de Físico-Química Experimental II. Entretanto, conforme se discutirá melhor na próxima seção (4.2.1), o experimento restringiu-se ao uso de água destilada, etanol, 1-propanol e 1-butanol.

4.1.2 Segunda etapa: separação dos solventes em próticos e apróticos

Baseando-se ainda na pesquisa de Dong e Winnik, na segunda etapa deste trabalho, optou-se em incluir, nos estudos sobre a fluorescência do pireno, solventes apróticos, ou seja, os quais são possíveis receptores de prótons para formar ligação de hidrogênio. Abaixo, novamente destacando a forte influência da polaridade na intensidade do pico I, estão os espectros de emissão de fluorescência do pireno para os solventes indicados na legenda à direita da Figura 13.

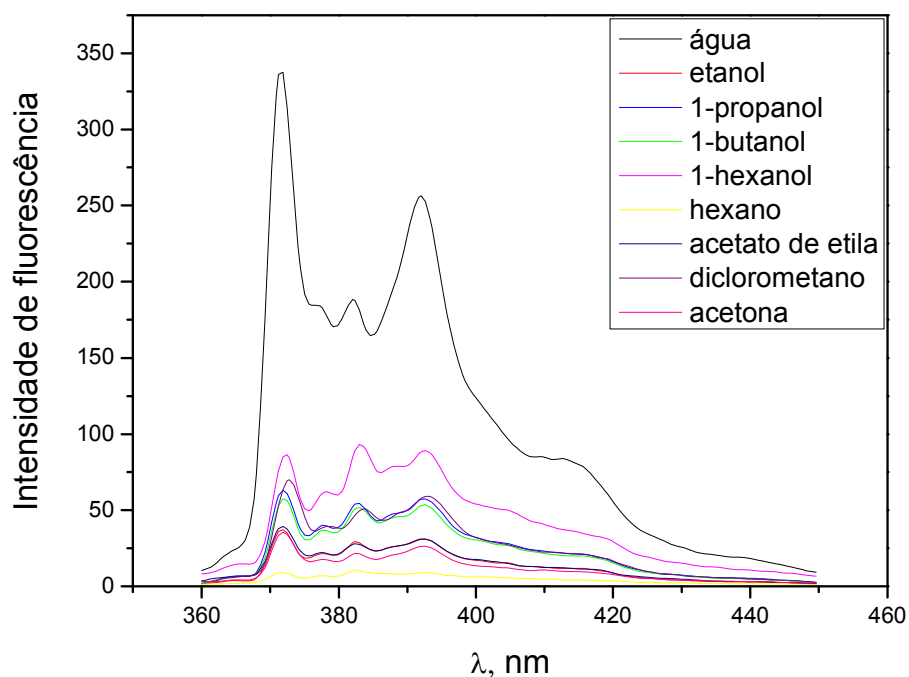


Figura 13. Espectros de emissão de fluorescência do pireno em soluções 1×10^{-6} mol L⁻¹ de solventes próticos e apróticos, identificados na legenda ao lado direito do gráfico.

Tabela 2. Intensidade de fluorescência das bandas I e III do pireno, valores de I/III e E_T^N para os solventes próticos e apróticos listados.

Solvente	I	III	I/III ^a	I/III ^b	E_T^N ^c
água	296,353	168,268	1,7612	1,87	1,000
etanol	32,7	25,709	1,27193	1,18	0,654
n-propanol	57,991	50,172	1,15584	1,09	0,617
n-butanol	53,651	48,813	1,09911	1,06	0,602
n-hexanol	84,164	89,65	0,93881	---	0,559
hexano	8,338	9,311	0,8955	0,58	0,009
acetato de etila	35,409	25,363	1,39609	1,37	0,228
diclorometano	70,144	50,71	1,38324	1,35	0,309
acetona	32,299	19,349	1,66929	1,64	0,355

^aEste trabalho. ^bRef. 11. ^cRef. 14.

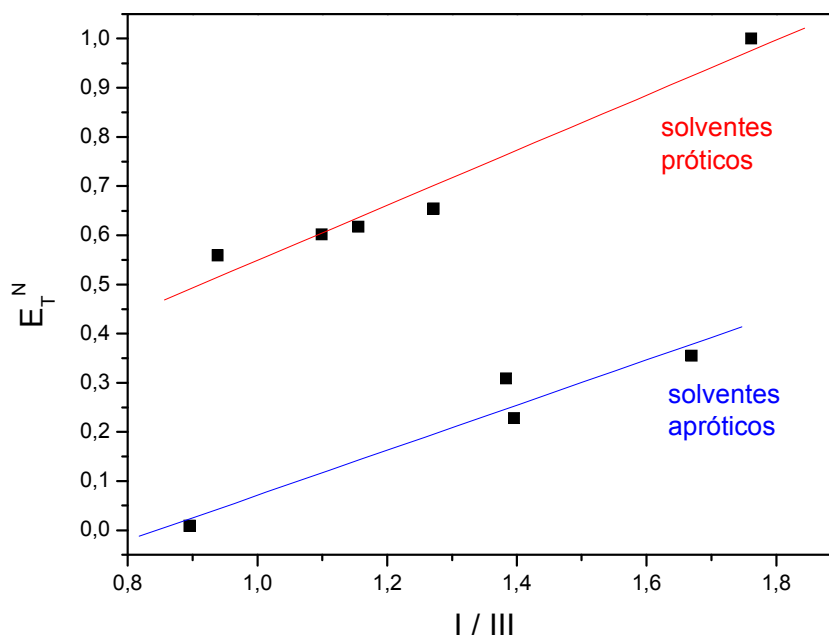


Figura 14. Gráfico dos valores de E_T^N versus a razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I/III para os solventes utilizados na segunda etapa deste trabalho.

Ao se comparar os valores de E_T^N versus I/III, é possível observar duas regiões no gráfico com uma boa correlação: a região formada pelos solventes próticos e a formada pelos solventes apróticos. Isto era esperado, uma vez que a intensidade de fluorescência do pireno, especialmente do pico I, está intimamente relacionada ao tipo de interação soluto-solvente dipolo-dipolo. Além disso, verifica-se que, para os dois grupos de solvente, o aumento de polaridade nos valores de I/III corresponde a um aumento de polaridade na escala E_T^N . Estes dados, aliás, concordam com aqueles obtidos por Dong e Winnik.

Foram a partir destes resultados que se optou em elaborar a segunda versão e a final do roteiro do experimento envolvendo estudos de fluorescência.

4.2 O PREPARO DO NOVO EXPERIMENTO E A ELABORAÇÃO DO SEU ROTEIRO

Em anexo, encontram-se as duas versões preliminares (Anexos 1 e 2) e a versão final (Anexo 3) do roteiro para o experimento proposto.

As alterações feitas nos dois primeiros roteiros foram baseadas, principalmente, em dúvidas levantadas pelos alunos da disciplina de Físico-Química Experimental II do primeiro semestre de 2008, com os quais o experimento foi realizado. As contribuições dos discentes foram de extrema importância para este trabalho.

4.2.1 Primeiro roteiro: testes com solventes alcoólicos e água

Para elaboração do primeiro roteiro da prática experimental, utilizaram-se como base os resultados obtidos na primeira etapa deste trabalho (veja seção 4.1.1). Porém, uma vez que nem todos os álcoois eram disponibilizados ao laboratório da graduação, optou-se em restringir os testes de fluorescência do pireno à água destilada, etanol, 1-propanol e 1-butanol.

A idéia inicial de relacionar os valores de I/III com o número de átomos de carbono dos solventes também foi abandonada, porque não possibilitaria aos alunos avaliar a escala P_y como uma escala empírica de polaridade.

Na fase probatória do primeiro roteiro constatou-se, entre os alunos, uma dificuldade maior em compreender o conceito de “polaridade empírica”[§] do que os conhecimentos referentes à fluorescência. Este fato suscitou alterações e a elaboração de um segundo roteiro, no qual se buscou uma ênfase ao fenômeno da fluorescência do pireno, condizente com os objetivos iniciais do experimento.

4.2.2 Segundo roteiro: testes com solventes alcoólicos e água

Este segundo roteiro resultou, então, dos dados experimentais obtidos na segunda etapa e das alterações acima referidas. Com a divisão dos solventes em dois grupos, próticos e apróticos, dois objetivos foram alcançados:

1) o conceito de “polaridade empírica” ficou mais claro para os alunos, uma vez que se destacou sua relação com as interações intermoleculares entre moléculas do

[§] Uma definição favorável de polaridade do solvente é a capacidade de solvatação geral (ou força de solvatação) dos solventes, a qual depende da ação de todas as interações intermoleculares específicas ou inespecíficas, entre moléculas ou íons do soluto e moléculas do solvente (REICHARDT, 1988).

soluto e do solvente. Aparentemente, tendo-se que tratar em separado os solventes próticos e apróticos, os alunos foram forçados a admitir que a definição de polaridade do solvente não poderia ser descrita quantitativamente por um parâmetro físico único;

2) a influência das interações químicas e físicas sobre a fluorescência do pireno ficou enfatizada. Conseqüentemente, os alunos puderam compreender melhor a dependência entre o espectro de emissão de fluorescência e o solvente no qual o fluoróforo se encontra (Figura 6 da Introdução).

4.2.3 Roteiro final: destaque à natureza pedagógica da experimentação

Após realizar as adequações referentes ao experimento em si mesmo (procedimento da prática), observou-se que alguns aspectos referentes à natureza pedagógica da experimentação precisavam ser alterados. Desta forma, no roteiro final, incluiu-se uma série de perguntas desde a parte introdutória até a seção do procedimento experimental, sob o título “para pensar”.

As indagações, dentro da Introdução do roteiro, tentam associar os conhecimentos já apreendidos pelos alunos, nas disciplinas teóricas de Físico-Química, com aqueles envolvidos no experimento de fluorescência. Com isto também se buscou evitar uma visão simplista de que pela experimentação no laboratório de graduação os alunos validam ou comprovam uma teoria estudada anteriormente em sala de aula. O próprio laboratório torna-se a sala de aula.

A fim de evitar a tradicional idéia de uma “receita de bolo”, no procedimento experimental também se incluiu uma pergunta, na tentativa de fazer os alunos questionarem o próprio experimento que estavam realizando.

4.3 ANÁLISE DOS RELATÓRIOS DOS ALUNOS

Conforme mencionado na Parte Experimental deste trabalho, o experimento sobre a fluorescência do pireno foi realizado com três turmas da disciplina de Físico-Química Experimental II: uma do primeiro semestre e as outras

duas do segundo semestre de 2008. No entanto, como o roteiro final somente foi aplicado a estas últimas, somente destas foi solicitada a realização de um relatório, envolvendo o questionário constante ao final da prática. Os relatórios analisados neste trabalho encontram-se em anexo (Anexos 4, 5, 6, 7, 8).

Dos cinco relatórios avaliados (da turma 729B, 2008.2), em apenas um deles (Relatório 5, do Anexo 8), observaram-se algumas confusões. Veja o trecho de uma resposta: *“Para solventes próticos observa-se que a emissão ocorre em comprimentos de ondas maiores (menor energia é liberada) e quando são utilizados solventes apróticos a emissão ocorre em comprimentos de ondas menores (maior energia é liberada).”* Na realidade, em ambos os casos, os comprimentos de onda são iguais. A diferença está na intensidade de emissão.

Neste mesmo relatório, os alunos concluem que não existe uma relação linear entre os valores de I/III e E_T^N para os solventes apróticos. Todavia, acredita-se que eles chegaram a esta conclusão dada a escala que utilizaram para o gráfico de correlação destes dois parâmetros. Até mesmo porque, em outro momento, os alunos validam a escala P_y para determinação da polaridade de solventes, tanto próticos como apróticos.

De modo geral, então, conclui-se que os objetivos almejados, na realização do experimento da fluorescência do pireno, foram alcançados; e os conhecimentos químicos relativos a ele foram bem compreendidos.

5 CONCLUSÕES

- A fluorescência do pireno é extremamente dependente do solvente utilizado, observando-se, inclusive, um comportamento diferenciado entre solventes próticos e apróticos;

- O pico I do espectro de emissão do pireno reduz significativamente de intensidade com a diminuição da polaridade do solvente em comparação com o pico III.

- A razão entre a intensidade dos picos I e III, do espectro de emissão de fluorescência do pireno, pode ser utilizada como um parâmetro empírico de polaridade de solventes, dada a relação linear dos valores de P_y com os valores de E_T^N (uma escala mais bem compreendida). Todavia, para tanto, os solventes devem ser considerados em dois grupos: próticos e apróticos.

- Pela avaliação dos relatórios dos alunos e demais observações realizadas na aplicação do experimento proposto, conclui-se que a realização deste em disciplinas de Físico-Química Experimental atende tanto às questões de ensino-aprendizado como aos aspectos gerais das aulas experimentais, como por exemplo, número de horas/aula. Quanto ao custo da prática, este talvez seja o único fator questionável.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SILVA, Marcos André do Rego. **Utilização do pireno como uma sonda fluorescente na investigação de ligações intermoleculares em misturas binárias de solventes**. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
2. GUILBAULT, George. **Practical Fluorescence: Theory, Methods and Techniques**. New York: Marcel Dekker, 1973. 664 p.
3. ATKINS, Peter; PAULA, Julio de. **Atkins: Físico-Química**. 7. ed. Tradução de Edilson Clemente da Silva, Márcio José Estillac de Mello Cardoso e Oswaldo Esteves Barcia. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., v. 2, 2004. 593 p.
4. LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. New York: Plenum, 1983. 496p.
5. BARBOSA, Paulo Cesar de Campos. **Aplicações de fluorescência induzida por laser em monitoramento ambiental**. 2003. 139p. Tese de Doutorado – Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.
6. SIMAS, Emanuelle Reis. **Síntese, caracterização e estudo das propriedades fotofísicas de um copolímero derivado de quinolina**. 2005. 57p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
7. RODRIGUES, Carlos Eduardo Deodoro. **Avaliação metrológica da resposta de sinais de fluorescência para medições de pigmentos em água**. 2007. 109p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Metrologia. Área de concentração: Metrologia para Qualidade e Inovação (Pós-MQI), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.
8. ICHINOSE, Norio *et al.* **Fluorometric analysis in biomedical chemistry: trends and techniques including HPLC applications**. New York: A Wiley-Interscience: J. Wiley, 1991. 225p.
9. VENTURINI, Cristina de Garcia. **Estudos do comportamento de corantes solvatocrômicos em soluções de ciclodextrinas**. 2005. 77p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Regional de Blumenau.
10. FELIPPE, Arlindo Cristiano. **Auto-associação do colato de sódio (NaC) em misturas com o surfactante aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS) e o polímero neutro hidrossolúvel poli(óxido de etileno)(PEO)**. 2006. 72 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

11. DONG, Dao Cong; WINNIK, Mitchell. The *Py* scale of solvent polarities. Solvent effects on the vibronic fine structure of pyrene fluorescence and empirical correlations with *ET* and *Y* values. **Photochemistry and Photobiology**, v. 35, n. 1, p. 17-21, jan. 1982.
12. NAKAJIMA, A. Solvent effect on the vibrational structures of the fluorescence and absorption spectra of pyrene. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 44, n. 12, p. 3272-3277, dez. 1971.
13. KALYANASUNDARAM, K.; THOMAS, J.K. Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of micellar systems. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 99, n. 7, p. 2039-2044, mar. 1977.
14. REICHARDT, Christian. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry**. 2. ed. Weinheim: VCH, 1988. 534 p.
15. SANTOS, Paulo Sérgio; SOUZA, Gerson Bezerra de. SBQ – 25 anos: Físico-Química. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, supl. 1, p. 31-33, jul. 2002.
16. CAVALLI, Viviane. **Estudos de fluorescência de corantes solvatocrômicos**. 2000. 63 f. Dissertação (Mestrado Interinstitucional em Química) – Faculdade Regional de Blumenau, Blumenau; Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
17. SHOEMAKER, David P.; GARLAND, Carl W. **Experiments in physical chemistry**. 2. ed. Tokyo: McGraw-Hill, 1967. 490p.
18. DANIELS, Farrington. **Experimental physical chemistry**. 7. ed. New York: McGraw-Hill, 1970. 669p.
19. BETTELHEIM, Frederick A. **Experimental physical chemistry**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1971. 518p.
20. SHANE, Edward C.; PRICE-EVERETT, Miranda; HANSON, Tonya. **Journal of Chemical Education**, 2002, vol. 77, p. 1617.

ANEXOS

ANEXO 1 – Primeiro roteiro do experimento

FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

I. Objetivos:

1. Estudar a fluorescência do pireno em álcoois de diferente polaridade;
2. Determinar os valores de P_y para etanol, *n*-propanol, *n*-butanol e água;
3. Comparar os valores P_y e E_T^N dos solventes analisados.

II. Introdução:

Durante a absorção de radiação eletromagnética UV/Vis, as moléculas são elevadas a um estado eletrônico excitado (S_1 ou S_2). A maioria das moléculas dissipa este excesso de energia na forma de calor pela colisão com outras moléculas. Mas algumas emitem parte deste excesso energético como luz em um comprimento de onda diferente daquele correspondente à radiação absorvida. Quando a luz emitida pelo decaimento para o estado eletrônico fundamental (S_0) é proveniente de uma transição entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade ($S_1 \rightarrow S_0$), ou seja, permitidas pela regra da conservação do spin, tem-se o fenômeno da **fluorescência**.

Pelo diagrama de Jablonski pode-se entender melhor a seqüência de etapas que leva à fluorescência.

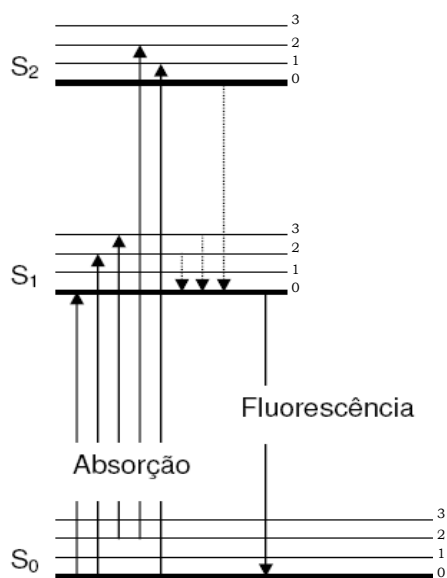


Figura 1. Diagrama de Jablonski. Os estados eletrônicos fundamental, primeiro e segundo estados excitados são representados por S_0 , S_1 e S_2 , respectivamente. Em cada nível de energia eletrônico existe uma série de níveis de energia vibracionais.

O espectro de emissão de fluorescência provém, então, de transições *para baixo* $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$; $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=1}$; $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$...e os picos se deslocam para os números de onda decrescentes.

Durante o tempo de vida do estado excitado, porém, uma variedade de interações químicas e físicas pode ocorrer antes da emissão, alterando as características espectrais do composto fluorescente. São estas alterações que têm distinguido a fluorescência dentre as técnicas ópticas de investigação de microambientes, de estudo das interações intermoleculares em fase líquida e para determinação experimental da polaridade de solventes. Veja o esquema representativo abaixo.

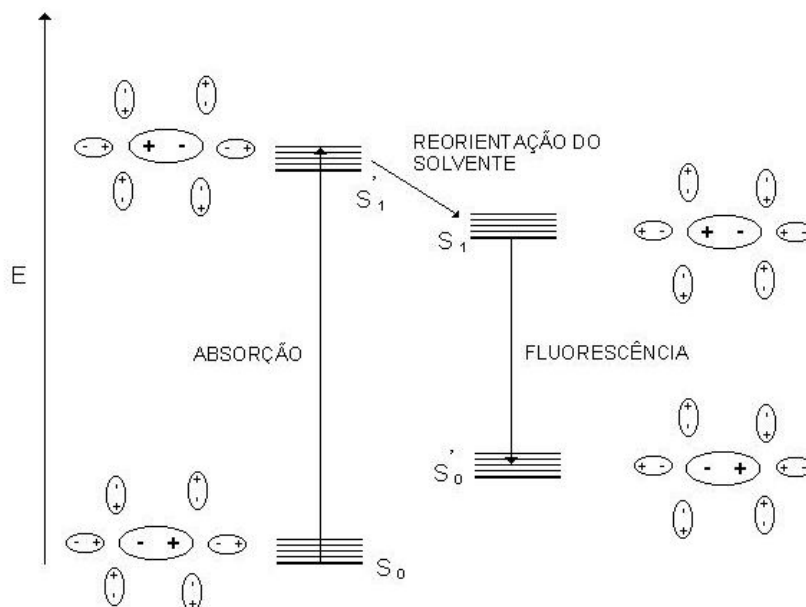


Figura 2. Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto fluorescente de acordo com o princípio de Franck-Condon.

Conforme se observa na Figura 2, o solvente pode ter interações diferentes com o soluto no estado fundamental (S_0) e nos estados excitados (S_1' e S_1). Isso porque o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletrônico excitado (cerca de 10^{-15} s) é muito menor do que o tempo necessário para realizar vibrações ou rotações (cerca de 10^{-12} a 10^{-10} s) – princípio de Franck-Condon. Como as moléculas do solvente não têm tempo suficiente para se reorganizarem durante a transição, a absorção ocorre em um ambiente característico do soluto solvatado no estado fundamental (S_0). Antes de a emissão de fluorescência ocorrer, porém, se o tempo de vida da molécula excitada do soluto é grande o bastante, as moléculas do solvente se reorganizam e este novo ambiente (S_1) é preservado na transição radioativa ($S_1 \rightarrow S_0'$). Por analogia, após a emissão, existe um estado fundamental de Franck-Condon (S_0') que persiste brevemente até as moléculas do solvente voltarem a se reorganizar ao estado fundamental original (S_0). É a solvatação diferencial desses dois estados (S_0 e S_1) o fator responsável pela influência do

solvente, bem como, de agregados micelares sobre o espectro de emissão de fluorescência.

Um exemplo particular bem estudado, onde o espectro de fluorescência é influenciado pelo solvente e microambiente, é o caso do **pireno**. O espectro de emissão do monômero deste composto exibe cinco bandas vibrônicas principais bem resolvidas (figura 3) entre 370 e 400 nm, chamadas **I...V** em ordem progressiva (a banda $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$ é chamada de **I**, e assim por diante).

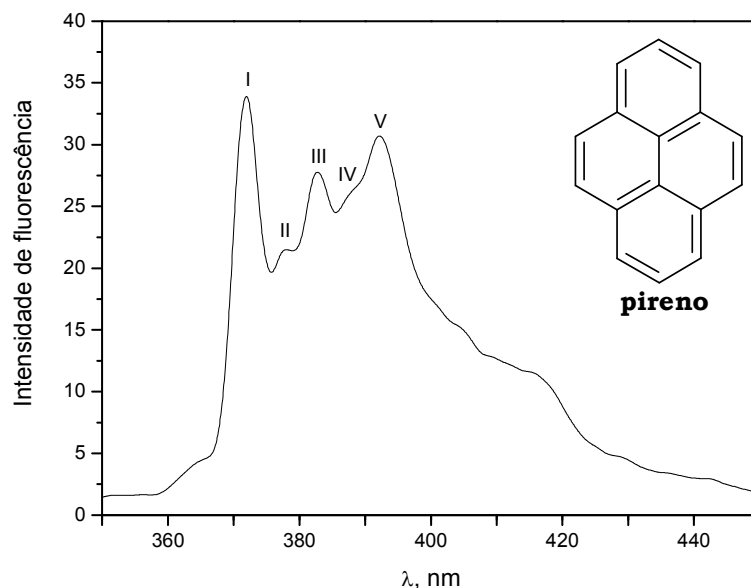


Figura 3. Espectro de emissão de fluorescência do monômero do pireno em etanol.

O pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), todavia, mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) tem servido como uma **medida quantitativa da polaridade do solvente**, a chamada **escala *Py*** ($Py = I / III$).

III. Procedimento Experimental:

1. A partir de uma solução estoque $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de pireno em etanol, prepare uma solução diluída $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em um balão volumétrico de 10 mL, usando etanol como solvente.
2. A partir da solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de pireno, prepare, em balões volumétricos de 10 mL, quatro (4) soluções $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando como solventes: água destilada, etanol, n-propanol e n-butanol.
3. Numere as soluções de 1 a 4 na ordem mencionada dos solventes.

4. Para obtenção dos espectros de emissão de fluorescência de cada uma das quatro amostras de pireno, será utilizado um espectrofluorímetro equipado com uma cela de quartzo de 10 mm e termostatizada a 25,0°C, cujas fendas de excitação e emissão do monocromador deverão estar ajustadas para 2,5 nm.
5. As amostras serão excitadas em 336 nm e os espectros corridos de 350 a 450 nm.
6. Após cada leitura, lave a cela de quartzo com um pouco de etanol para evitar contaminações entre as amostras analisadas.
7. Salve os espectros de emissão de cada uma das soluções para posterior análise dos dados gráficos.

IV. Tratamento dos dados:

A partir dos espectros de emissão de fluorescência das soluções I a IV de pireno, complete a tabela abaixo:

Tabela 1. Dados de fluorescência do pireno em água destilada, etanol, n-propanol e n-butanol.				
Solução	Solvente	Intensidade máxima de fluorescência do pico I, em 372,8 nm	Intensidade máxima de fluorescência do pico III, em 384,0 nm	Razão I/III (valor P_y)
I	água			
II	etanol			
III	n-propanol			
IV	n-butanol			

Para os solventes analisados, construa um gráfico dos valores de P_y versus valores de E_T^N (escala normalizada de Reichardt).

Tabela 2. Valores do parâmetro empírico de polaridade de solventes, E_T^N , medidos à 25,0°C.	
Solvente	E_T^N
tetrametilsilano (TMS)	0,000
metanol	0,762
etanol	0,654
1-propanol	0,617
1-butanol	0,602
água	1,000

V. Questionário:

1. A escala E_T^N , assim como a escala P_y , é um parâmetro empírico para medidas quantitativas de polaridade de solventes. Por ser mais bem compreendida, é a

escala mais utilizada e aceita atualmente; e por isso os valores de E_T^N foram correlacionados com os de *Py*.

A partir do gráfico de *Py* versus E_T^N obtido, qual a relação entre estes dois parâmetros empíricos de polaridade de solventes? Esta relação valida ou invalida o uso da fluorescência do pireno como medida quantitativa para polaridade de solventes?

2. Como os picos I e III, do espectro de fluorescência do pireno, variaram em função da polaridade dos solventes?
3. A partir do esquema da Figura 2, explique por que a intensidade de fluorescência do pireno varia com a polaridade do solvente.
4. Por que a fluorescência do pireno ocorre em comprimentos de onda maiores (370 a 400 nm) que a absorção (336 nm)?
5. Pesquise na literatura a diferença entre fosforescência e fluorescência.

VI. Bibliografia:

1. ATKINS, Peter; PAULA, Julio de. **Atkins: Físico-Química**. 7. ed. Tradução de Edílson Clemente da Silva, Márcio José Estillac de Mello Cardoso e Oswaldo Esteves Barcia. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., v. 2, 2004. 593 p.
2. GUILBAULT, George. **Practical Fluorescence: Theory, Methods and Techniques**. New York: Marcel Dekker, 1973. 664 p.
3. LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. New York: Plenum, 1983. 496p.
4. REICHARDT, Christian. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry**. 2. ed. Weinheim: VCH, 1988. 534 p.
5. SILVA, Marcos André do Rego. **Utilização do pireno como uma sonda fluorescente na investigação de ligações intermoleculares em misturas binárias de solventes**. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ANEXO 2 – Segundo roteiro do experimento

FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

I. Objetivos:

1. Estudar a fluorescência do pireno em solventes apróticos e próticos de diferentes polaridades;
2. Determinar os valores de P_y para etanol, *n*-propanol, *n*-butanol, *n*-hexanol, água, acetato de etila, acetona, hexano e diclorometano;
3. Comparar os valores P_y e E_T^N das duas séries de solventes analisados.

II. Introdução:

Durante a absorção de radiação eletromagnética UV/Vis, as moléculas são elevadas a um estado eletrônico excitado (S_1 ou S_2). A maioria das moléculas dissipa este excesso de energia na forma de calor pela colisão com outras moléculas. Mas algumas emitem parte deste excesso energético como luz em um comprimento de onda diferente daquele correspondente à radiação absorvida. Quando a luz emitida pelo decaimento para o estado eletrônico fundamental (S_0) é proveniente de uma transição entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade ($S_1 \rightarrow S_0$), ou seja, permitidas pela regra da conservação do spin, tem-se o fenômeno da **fluorescência**.

Pelo diagrama de Jablonski pode-se entender melhor a seqüência de etapas que leva à fluorescência.

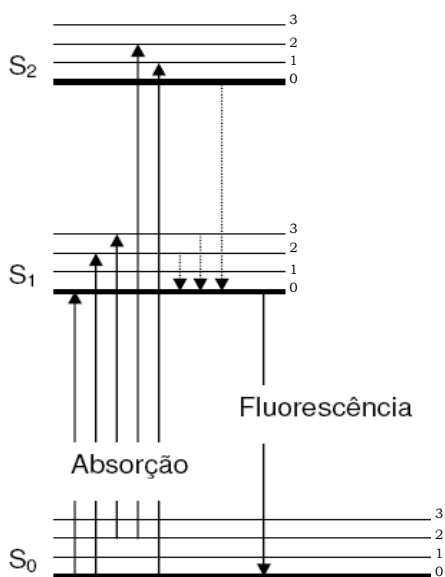


Figura 1. Diagrama de Jablonski. Os estados eletrônicos fundamental, primeiro e segundo estados excitados são representados por S_0 , S_1 e S_2 , respectivamente. Em cada nível de energia eletrônico existe uma série de níveis de energia vibracionais.

O espectro de emissão de fluorescência provém, então, de transições *para baixo* $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$; $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=1}$; $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2} \dots$ e os picos se deslocam para os números de onda decrescentes.

Durante o tempo de vida do estado excitado, porém, uma variedade de interações químicas e físicas pode ocorrer antes da emissão, alterando as características espectrais do composto fluorescente. São estas alterações que têm distinguido a fluorescência dentre as técnicas ópticas de investigação de microambientes, de estudo das interações intermoleculares em fase líquida e para determinação experimental da polaridade de solventes. Veja o esquema representativo abaixo.

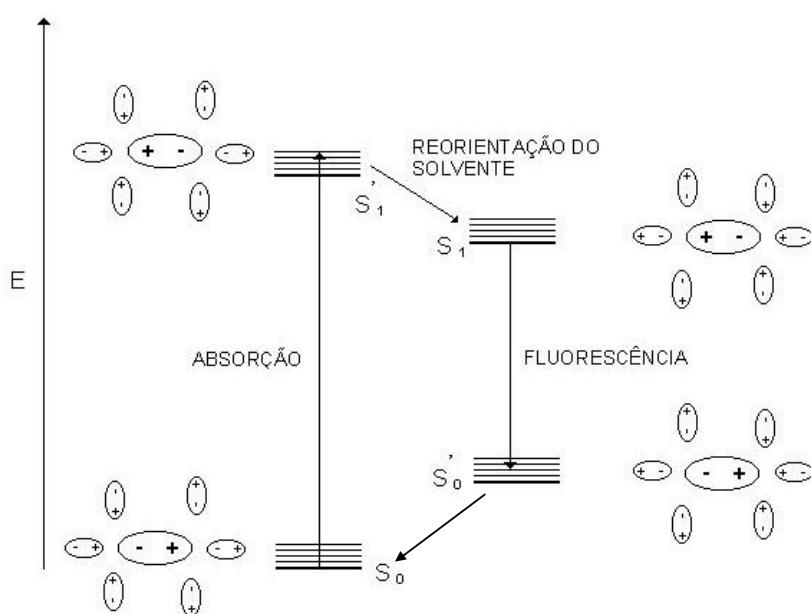


Figura 2. Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto fluorescente de acordo com o princípio de Franck-Condon.

Conforme se observa na Figura 2, o solvente pode ter interações diferentes com o soluto no estado fundamental (S_0) e nos estados excitados (S_1' e S_1). Isso porque o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletrônico excitado (cerca de 10^{-15} s) é muito menor do que o tempo necessário para realizar vibrações ou rotações (cerca de 10^{-12} a 10^{-10} s) – princípio de Franck-Condon. Como as moléculas do solvente não têm tempo suficiente para se reorganizarem durante a transição, a absorção ocorre em um ambiente característico do soluto solvatado no estado fundamental (S_0). Antes da emissão de fluorescência ocorrer, porém, se o tempo de vida da molécula excitada do soluto é grande o bastante, as moléculas do solvente se reorganizam e este novo ambiente (S_1) é preservado na transição radioativa ($S_1 \rightarrow S_0'$). Por analogia, após a emissão, existe um estado fundamental de Franck-Condon (S_0') que persiste brevemente até as moléculas do solvente voltarem a se

reorganizar ao estado fundamental original (S_0). É a solvatação diferencial desses dois estados (S_0 e S_1) o fator responsável pela influência do solvente, bem como, de agregados micelares sobre o espectro de emissão de fluorescência.

Um exemplo particular bem estudado, onde o espectro de fluorescência é influenciado pelo solvente e microambiente, é o caso do **pireno**. O espectro de emissão do monômero deste composto exibe cinco bandas vibrônicas principais bem resolvidas (figura 3) entre 370 e 400 nm, chamadas **I...V** em ordem progressiva (a banda $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$ é chamada de **I**, e assim por diante).

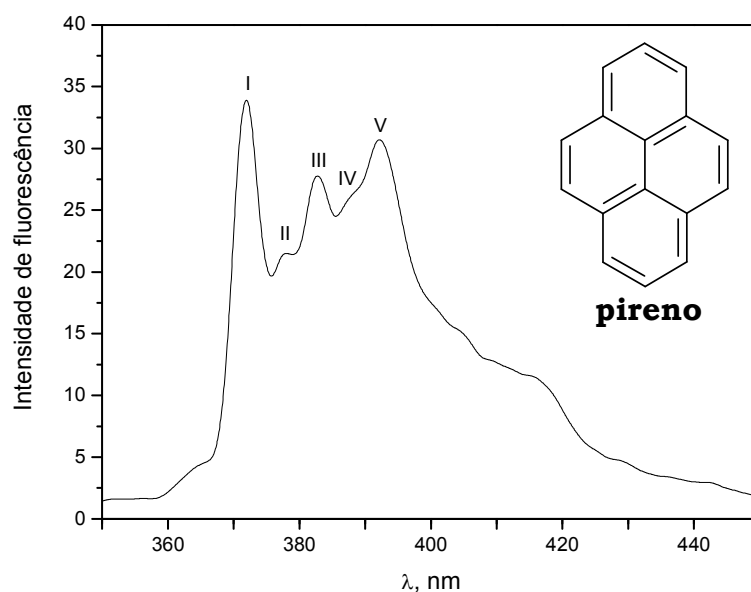


Figura 3. Espectro de emissão de fluorescência do monômero do pireno em etanol.

O pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), todavia, mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) tem servido como uma **medida quantitativa da polaridade do solvente**, a chamada **escala *Py*** ($Py = I / III$).

Atualmente, a escala empírica de polaridade do solvente mais utilizada é a E_T^N , a qual se baseia em mudanças no espectro de absorção UV/Vis (solvatocromismo) do 2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)-1-fenolato ou corante de Reichardt (Figura 4). O parâmetro E_T^N é uma escala normalizada que usa o tetrametilsilano (TMS), $E_T^N=0$, e a água, $E_T^N=1$, como os solventes dos extremos de referência.

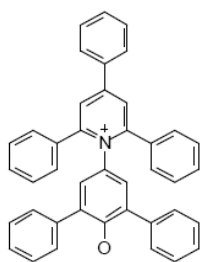


Figura 4. Corante de Reichardt.

III. Procedimento Experimental:

1. A partir de uma solução estoque $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de pireno em etanol, prepare uma solução diluída $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em um balão volumétrico de 25 mL, usando etanol como solvente.
2. A partir da solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de pireno, prepare, em balões volumétricos de 25 mL, nove (9) soluções **$1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$** , utilizando como solventes: água destilada, etanol, n-propanol, n-butanol, n-hexanol, hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona.
3. Separe estes solventes em dois grupos, próticos e apróticos, e numere as soluções de 1 a 9 na ordem mencionada dos solventes.
4. Para obtenção dos espectros de emissão de fluorescência de cada uma das nove amostras de pireno, será utilizado um espectrofluorímetro (Hitachi F-4500) equipado com uma cela de quartzo de 10 mm e termostatizada a 25°C , cujas fendas de excitação e emissão do monocromador deverão estar ajustadas para 2,5 nm.
5. As amostras serão **excitadas em 336 nm** e os espectros corridos de **360 a 450 nm**.
6. Após cada leitura, lave a cela de quartzo com um pouco de etanol para evitar contaminações entre as amostras analisadas.
7. Salve os espectros de emissão de cada uma das soluções para posterior análise dos dados gráficos.

IV. Tratamento dos dados:

A partir dos espectros de emissão de fluorescência das soluções 1 a 9 de pireno, complete a tabela abaixo:

Tabela 1. Dados de fluorescência do pireno em água destilada, etanol, n-propanol, n-butanol, n-hexanol, hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona.					
Classificação	Solução	Solvente	Intensidade máxima de fluorescência do pico I, em 372,8 nm	Intensidade máxima de fluorescência do pico III, em 384,0 nm	Razão I/III (valor Py)
P R Ó T I C O	1	água			
	2	etanol			
	3	n-propanol			
	4	n-butanol			
	5	n-hexanol			

A P R O T I C O	6	hexano			
	7	acetato de etila			
	8	diclorometano			
	9	acetona			

Para os solventes analisados, construa um gráfico dos valores de P_y versus valores de E_T^N (escala normalizada de Reichardt). Plote os dados dos dois grupos de solventes, próticos e apróticos, num mesmo gráfico para melhor comparação.

Tabela 2. Valores do parâmetro empírico de polaridade de solventes, E_T^N , medidos à 25,0°C.

Solvente	E_T^N
tetrametilsilano (TMS)	0,000
hexano	0,009
acetato de etila	0,228
diclorometano	0,309
acetona	0,355
1-hexanol	0,559
1-butanol	0,602
1-propanol	0,617
etanol	0,654
metanol	0,762
água	1,000

V. Questionário:

1. A escala E_T^N , assim como a escala P_y , é um parâmetro empírico para medidas quantitativas de polaridade de solventes. Por ser mais bem compreendida, E_T^N é a escala mais utilizada e aceita atualmente; e por isso seus valores foram correlacionados com os de P_y .

A partir do gráfico de P_y versus E_T^N obtido, responda:

- a) Como os valores de P_y variaram em função dos valores de E_T^N ?
 - b) Essa variação foi igual ou diferente para os dois grupos de solventes? Explique.
 - c) A relação encontrada entre os dois parâmetros valida ou invalida o uso da fluorescência do pireno como medida quantitativa para polaridade de solventes? Justifique.
2. Como os picos I e III, do espectro de fluorescência do pireno, variaram em função da polaridade dos solventes?

3. A partir do esquema da Figura 2, explique por que a intensidade de fluorescência do pireno varia com a polaridade do solvente.
4. Por que a fluorescência do pireno ocorre em comprimentos de onda maiores (370 a 400 nm) que a absorção (336 nm)?
5. Pesquise na literatura a diferença entre fosforescência e fluorescência.

VI. Bibliografia:

1. ATKINS, Peter; PAULA, Julio de. **Atkins: Físico-Química**. 7. ed. Tradução de Edílson Clemente da Silva, Márcio José Estillac de Mello Cardoso e Oswaldo Esteves Barcia. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., v. 2, 2004. 593 p.
2. GUILBAULT, George. **Practical Fluorescence: Theory, Methods and Techniques**. New York: Marcel Dekker, 1973. 664 p.
3. LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. New York: Plenum, 1983. 496p.
4. REICHARDT, Christian. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry**. 2. ed. Weinheim: VCH, 1988. 534 p.
5. SILVA, Marcos André do Rego. **Utilização do pireno como uma sonda fluorescente na investigação de ligações intermoleculares em misturas binárias de solventes**. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ANEXO 3 – Versão final do roteiro do experimento

FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

I. Objetivos:

- 1. Estudar a fluorescência do pireno em solventes apróticos e próticos de diferentes polaridades;*
- 2. Determinar os valores de P_y para etanol, n-propanol, n-butanol, n-hexanol, água, acetato de etila, acetona, hexano e diclorometano;*
- 3. Comparar os valores P_y e E_T^N das duas séries de solventes analisados.*

II. Introdução:

Para pensar: Antes de iniciar a leitura desta prática, relembre um pouco as aulas teóricas de Físico-Química: o que acontece com as moléculas ao absorverem radiação de raio-X, ultravioleta ou visível? Existe diferença em relação à absorção de energia na região do infravermelho e microondas?

Durante a absorção de radiação eletromagnética UV/Vis, as moléculas são elevadas a um estado eletrônico excitado (S_1 ou S_2). A maioria das moléculas dissipa este excesso de energia na forma de calor pela colisão com outras moléculas. Mas algumas emitem parte deste excesso energético como luz em um comprimento de onda diferente daquele correspondente à radiação absorvida. Quando a luz emitida pelo decaimento para o estado eletrônico fundamental (S_0) é proveniente de uma transição entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade ($S_1 \rightarrow S_0$), ou seja, permitidas pela regra da conservação do spin, tem-se o fenômeno da **fluorescência**.

Pelo diagrama de Jablonski pode-se entender melhor a seqüência de etapas que leva à fluorescência.

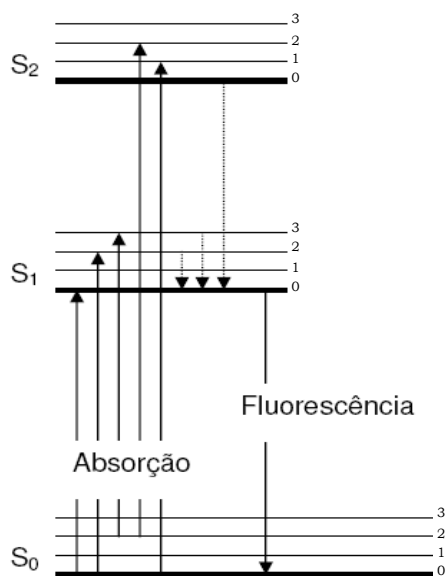


Figura 1. Diagrama de Jablonski. Os estados eletrônicos fundamental, primeiro e segundo estados excitados são representados por S₀, S₁ e S₂, respectivamente. Em cada nível de energia eletrônico existe uma série de níveis de energia vibracionais.

O espectro de emissão de fluorescência provém, então, de transições *para baixo* $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$; $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=1}$; $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$... e os picos se deslocam para os números de onda decrescentes.

Durante o tempo de vida do estado excitado, porém, uma variedade de interações químicas e físicas pode ocorrer antes da emissão, alterando as características espectrais do composto fluorescente, como por exemplo, aparecimento de novas bandas, deslocamento no comprimento de onda de emissão e mudanças na intensidade de emissão.

Para pensar: Você saberia apontar alguma forma de interação que pode ocorrer entre o solvente (ou meio solubilizante) e o soluto fluorescente, antes da emissão?

São estas alterações (das características espectrais) que têm distinguido a fluorescência dentre as técnicas ópticas de investigação de microambientes, de estudo das interações intermoleculares em fase líquida e para determinação experimental da polaridade de solventes. Veja o esquema representativo abaixo.

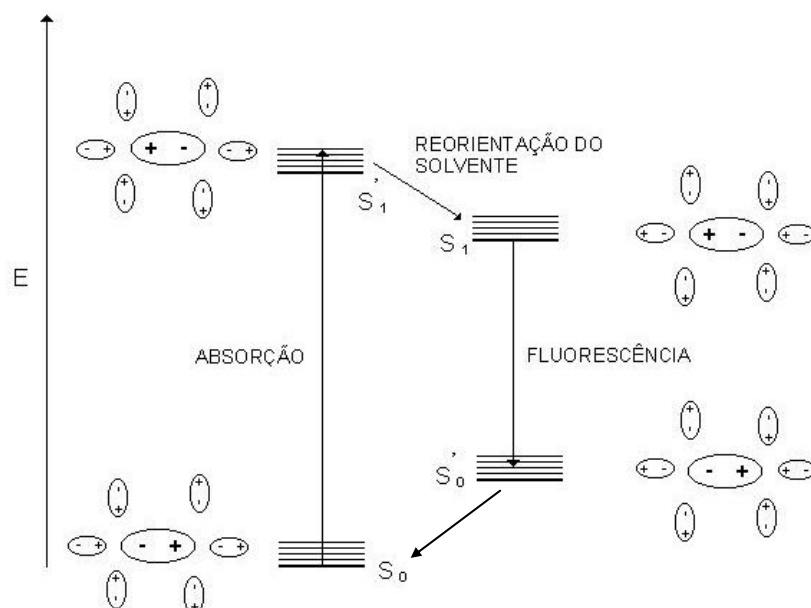


Figura 2. Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto fluorescente de acordo com o princípio de Franck-Condon.

Conforme se observa na Figura 2, o solvente pode ter interações diferentes com o soluto no estado fundamental (S_0) e nos estados excitados (S'_1 e S_1). Isso porque o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletrônico excitado (cerca de 10^{-15} s) é muito menor do que o tempo necessário para realizar vibrações ou rotações (cerca de 10^{-12} a 10^{-10} s) – princípio de Franck-Condon. Como as moléculas do solvente não têm tempo suficiente para se reorganizarem durante a transição, a absorção ocorre em um ambiente característico do soluto solvatado no estado fundamental (S_0). Antes da emissão de fluorescência ocorrer, porém, se o tempo de vida da molécula excitada do soluto é grande o bastante, as moléculas do solvente se reorganizam e este novo ambiente (S_1) é preservado na transição radioativa ($S_1 \rightarrow S'_0$). Por analogia, após a emissão, existe um estado fundamental de Franck-Condon (S'_0) que persiste brevemente até as moléculas do solvente voltarem a se reorganizar ao estado fundamental original (S_0). É a solvatação diferencial desses dois estados (S_0 e S_1) o fator responsável pela influência do solvente, bem como, de agregados micelares sobre o espectro de emissão de fluorescência.

Um exemplo particular bem estudado, onde o espectro de fluorescência é influenciado pelo solvente e microambiente, é o caso do **pireno**. O espectro de emissão do monômero deste composto exibe cinco bandas vibrônicas principais bem resolvidas (figura 3) entre 370 e 400 nm, chamadas **I...V** em ordem progressiva (a banda $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$ é chamada de **I**, e assim por diante).

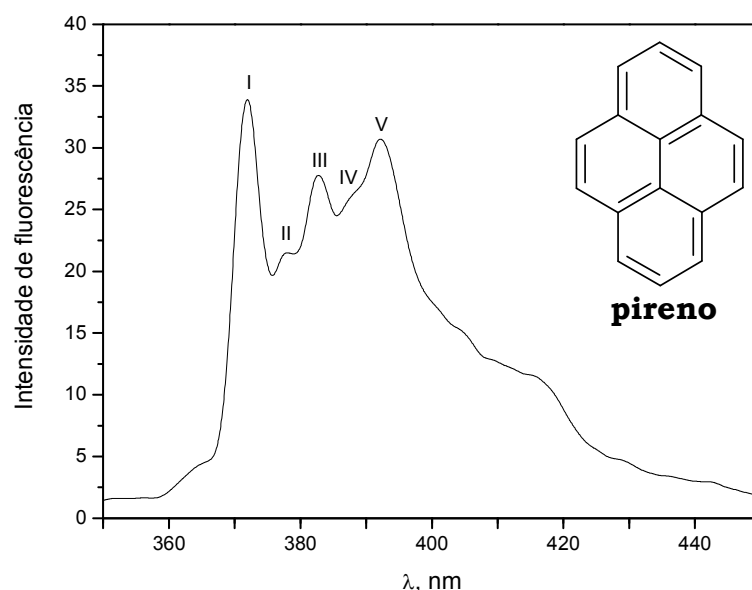


Figura 3. Espectro de emissão de fluorescência do monômero do pireno em etanol.

O pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), todavia, mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) tem servido como uma **medida quantitativa da polaridade do solvente**, a chamada **escala *Py*** ($Py = I / III$).

Para pensar: A escala *Py* é uma escala empírica de polaridade. O que isso significa? Ou ainda, qual a diferença entre um parâmetro empírico e uma constante física, como por exemplo, o momento dipolar molecular, para determinação da polaridade de solventes?

Atualmente, a escala empírica de polaridade do solvente mais utilizada é a E_T^N , a qual se baseia em mudanças no espectro de absorção UV/Vis (solvatocromismo) do 2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)-1-fenolato ou corante de Reichardt (Figura 4). O parâmetro E_T^N é uma escala normalizada que usa o tetrametilsilano (TMS), $E_T^N=0$, e a água, $E_T^N=1$, como os solventes dos extremos de referência.

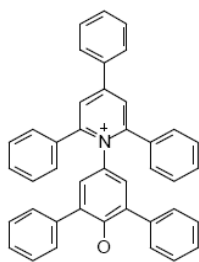


Figura 4. Corante de Reichardt.

Pelos valores de E_T^N serem mais compreendidos e reconhecidos entre os químicos, a correlação destes com os valores de *Py* foi essencial para a proposição da escala do pireno como um parâmetro empírico de polaridade, em 1982, quando 62 solventes puros foram analisados.

III. Procedimento Experimental:

Atenção! Nesta prática experimental, você manuseará alguns solventes orgânicos tóxicos e voláteis. Por isso, prepare as soluções dentro da capela de exaustão do laboratório. Além disso, evite contato com a pele; embora a *U.S. Environmental Protection Agency* classifique o pireno como não-carcinogênico, não custa evitar a exposição com o mesmo já que ele faz parte da listagem de Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HAPs).

1. A partir de uma solução estoque $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de pireno em etanol, prepare uma solução diluída $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em um balão volumétrico de 25 mL, usando etanol como solvente.
2. A partir da solução $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de pireno, prepare, em balões volumétricos de 10 mL, nove (9) soluções **$1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$** , utilizando como solventes: água destilada, etanol, n-propanol, n-butanol, n-hexanol, hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona.
3. Separe estes solventes em dois grupos, próticos e apróticos, e numere as soluções de 1 a 9 na ordem mencionada dos solventes.

Para pensar: Por que separar os solventes em dois grupos: próticos e apróticos?

4. Para obtenção dos espectros de emissão de fluorescência de cada uma das nove amostras de pireno, será utilizado um espectrofluorímetro (Hitachi F-4500) equipado com uma cela de quartzo de 10 mm e termostatizada a 25°C, cujas fendas de excitação e emissão do monocromador deverão estar ajustadas para 2,5 nm.
5. As amostras serão **excitadas em 336 nm** e os espectros corridos de **360 a 450 nm**.
6. Após cada leitura, lave a cela de quartzo com um pouco de etanol para evitar contaminações entre as amostras analisadas.
7. Salve os espectros de emissão de cada uma das soluções para posterior análise dos dados gráficos.

IV. Tratamento dos dados:

A partir dos espectros de emissão de fluorescência das soluções 1 a 9 de pireno, complete a tabela abaixo:

Tabela 1. Dados de fluorescência do pireno em água destilada, etanol, n-propanol, n-butanol, n-hexanol, hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona.

Classe	Solução	Solvente	Intensidade máxima de fluorescência do pico I, em 372,8 nm	Intensidade máxima de fluorescência do pico III, em 384,0 nm	Razão I/III (valor Py)
P R Ó T I C O S	1	água			
	2	etanol			
	3	n-propanol			
	4	n-butanol			
	5	n-hexanol			
A P R Ó T I C O S	6	hexano			
	7	acetato de etila			
	8	diclorometano			
	9	acetona			

Para os solventes analisados, construa um gráfico dos valores de Py versus valores de E_T^N (escala normalizada de Reichardt); por meio dele, você poderá observar se existe ou não uma correção entre estas duas escalas de polaridade e, por conseguinte, avaliar a validade da escala Py .

Plote os dados dos dois grupos de solventes, próticos e apróticos, num mesmo gráfico para melhor comparação.

Tabela 2. Valores do parâmetro empírico de polaridade de solventes, E_T^N , medidos à 25,0°C.

Solvente	E_T^N
tetrametilsilano (TMS)	0,000
hexano	0,009
acetato de etila	0,228
diclorometano	0,309
acetona	0,355
1-hexanol	0,559
1-butanol	0,602
1-propanol	0,617
etanol	0,654
metanol	0,762
água	1,000

V. Questionário:

1. A escala E_T^N , assim como a escala Py , é um parâmetro empírico para medidas quantitativas de polaridade de solventes. Por ser mais bem compreendida, E_T^N é a escala mais utilizada e aceita atualmente; e por isso seus valores foram correlacionados com os de Py .
A partir do gráfico de Py versus E_T^N obtido, responda:
 - a) Como os valores de Py variaram em função dos valores de E_T^N ?
 - b) Essa variação foi igual ou diferente para os dois grupos de solventes? Explique.
 - c) A relação encontrada entre os dois parâmetros valida ou invalida o uso da fluorescência do pireno como medida quantitativa para polaridade de solventes? Justifique.
2. Como os picos I e III, do espectro de fluorescência do pireno, variaram em função da polaridade dos solventes?
3. A partir do esquema da Figura 2, explique por que a intensidade de fluorescência do pireno varia com a polaridade do solvente.
4. Por que a fluorescência do pireno ocorre em comprimentos de onda maiores (370 a 400 nm) que a absorção (336 nm)?
5. Pesquise na literatura a diferença entre fosforescência e fluorescência. Procure explicar utilizando o diagrama de Jablonski.

VI. Recolhimento dos resíduos:

Os resíduos desta experiência devem ser recolhidos em dois recipientes distintos:

- Coletor A - Solventes orgânicos e soluções de substâncias orgânicas que não contenham halogênios (soluções 1 a 7 e solução 9);
- Coletor B - Solventes orgânicos e soluções orgânicas que contenham halogênios (solução 8).

VII. Bibliografia:

1. ATKINS, Peter; PAULA, Julio de. **Atkins: Físico-Química**. 7. ed. Tradução de Edílson Clemente da Silva, Márcio José Estillac de Mello Cardoso e Oswaldo Esteves Barcia. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., v. 2, 2004. 593 p.
2. GUILBAULT, George. **Practical Fluorescence: Theory, Methods and Techniques**. New York: Marcel Dekker, 1973. 664 p.
3. LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. New York: Plenum, 1983. 496p.
4. REICHARDT, Christian. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry**. 2. ed. Weinheim: VCH, 1988. 534 p.

5. SILVA, Marcos André do Rego. **Utilização do pireno como uma sonda fluorescente na investigação de ligações intermoleculares em misturas binárias de solventes**. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
6. http://rais.ornl.gov/tox/profiles/pyrene_f_V1.shtml acessado em 29 de setembro de 2008.

ANEXO 4 – Relatório 1^{**}

FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

Dados Experimentais

Tabela 1. Dados de fluorescência do Pireno em água destilada, etanol, n-propanol, n-butanol, hexano, acetato de etila, diclorometano e acetona.

Classe	Solução	Solvente	Intensidade máxima de fluorescência do pico I, em 372,8 nm	Intensidade máxima de fluorescência do pico III, em 384,0 nm	Razão I/III (valor Py)
Próticos	1	Água	332,5	191,058	1,74
	2	Etanol	41,572	33,476	1,24
	3	n-propanol	64,62	56,371	1,15
	4	n-butanol	60,69	55,614	1,09
Apróticos	5	Hexano	7,95	9,816	0,81
	6	Acetato de etila	33,707	24,231	1,39
	7	Diclorometano	84,297	59,592	1,41
	8	Acetona	32,376	19,539	1,66

Tabela 2. Valores do parâmetro empírico de polaridade de solventes, E_T^N , medidos a 25,0° C.

Solvente	E_T^N
Água	1,000
Etanol	0,654
n-propanol	0,617
n-butanol	0,602
Hexano	0,009
Acetato de etila	0,228
Diclorometano	0,309
Acetona	0,355

Com os dados obtidos para os solventes analisados calculou-se o valor de Py e fez-se um gráfico deste versus os valores de E_T^N . O grupo de solventes próticos está representado em preto e o grupo de solventes apróticos está representado em vermelho. A divisão dos solventes em dois grupos foi efetuada para uma melhor comparação devido as diferenças nas interações solvente-soluto.

^{**} Os relatórios anexados foram enviados pelos alunos por e-mail. Por isso, a formatação original foi mantida.

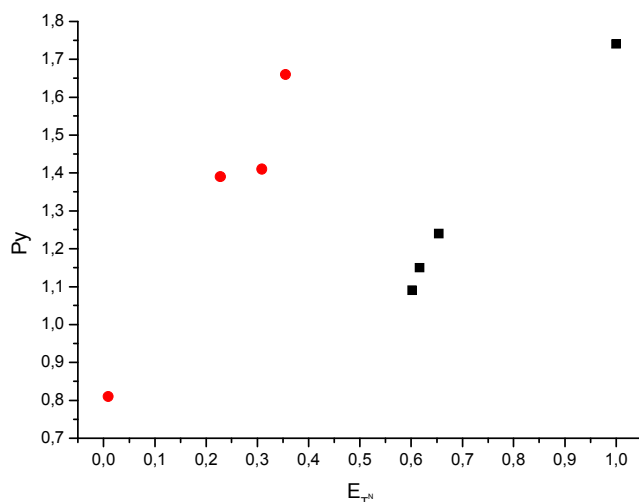


Gráfico 1. Gráfico dos valores de Py versus valores de E_T^N .

Questionário

- a) Pelo gráfico podemos observar que os valores de Py aumentam conforme o aumento dos valores de E_T^N , porém essa variação não apresenta linearidade.

b) A variação observada no item acima foi similar para os dois grupos de solventes. Os dois parâmetros de polaridade em questão aumentam conforme o aumento da polaridade. Mesmo com os diferentes ambientes em que o soluto encontra-se solvatado (solventes apróticos ou não) a relação continua verdadeira.

c) Embora os valores absolutos dos dois parâmetros sejam diferentes eles seguem a mesma lógica de polaridade, ou seja, quanto maior a polaridade do solvente maior será o valor do parâmetro empírico. Logo o estudo da fluorescência do pireno pode ser utilizado para avaliar a polaridade de solventes.
- Os espectros de fluorescência do pireno apresentaram comportamentos similares em relação à intensidade dos picos I e II para os diferentes solventes estudados. A maior intensidade máxima para os dois picos é observada para o solvente que está no extremo de maior polaridade entre os solventes estudados, água, e a menor intensidade máxima para o solvente que está no extremo de menor polaridade, hexano. Para os solventes de polaridade intermediária os valores de intensidade máxima são semelhantes (entre 85 e 34).
- A intensidade de fluorescência do pireno depende do ambiente de solvatação que o soluto se encontra e este ambiente por sua vez depende do tempo de vida do estado excitado. Durante este tempo podem ocorrer uma variedade de interações químicas soluto-solvente que alteram a intensidade de emissão.
- A absorção do pireno ocorre em 336nm espera-se que a emissão ocorra no mesmo comprimento de onda, porém deslocamentos para comprimentos de onda maiores, ou seja, menores energias são observadas. Isto ocorre devido à dissipação de uma quantidade de energia na forma de calor durante a colisão entre as moléculas.

5. No fenômeno de fosforescência, os átomos são excitados pela radiação visível, no que o difere da fluorescência onde os átomos são excitados com fótons ultravioleta. A retirada do efeito de excitação não ocorre imediatamente à excitação, os átomos ficam excitados por longo tempo, em alguns casos, até por várias horas, antes emitirem fótons. No caso de emissão de radiação, esta será chamada fluorescência quando houver conservação do spin eletrônico, e fosforescência quando o spin do elétron for alterado durante o tempo que a molécula permanece no estado excitado.

ANEXO 5 – Relatório 2

Introdução

A absorção de energia na faixa do UV-Vis leva uma espécie química de um estado fundamental para um estado excitado. A energia absorvida pode ser descarregada através de calor, mas também através de outras formas.

Uma molécula pode descarregar a energia absorvida através da emissão de radiação de comprimento de onda menor ao absorvido. Essa emissão é chamada fluorescência.

Medidas de fluorescência são feitas de forma parecida a medidas no UV-Vis, mas o feixe emitido por fluorescência é captado perpendicularmente a amostra para que não haja interferência do feixe transmitido.

A técnica de fluorescência pode fornecer informações sobre influência do solvente e microambientes da molécula investigada.

O objetivo desse trabalho é utilizar a técnica de fluorescência para construção de uma escala de polaridade: a escala Py. Essa escala deve ser comparada, através de um plot linear, com outra escala: a escala ETN.

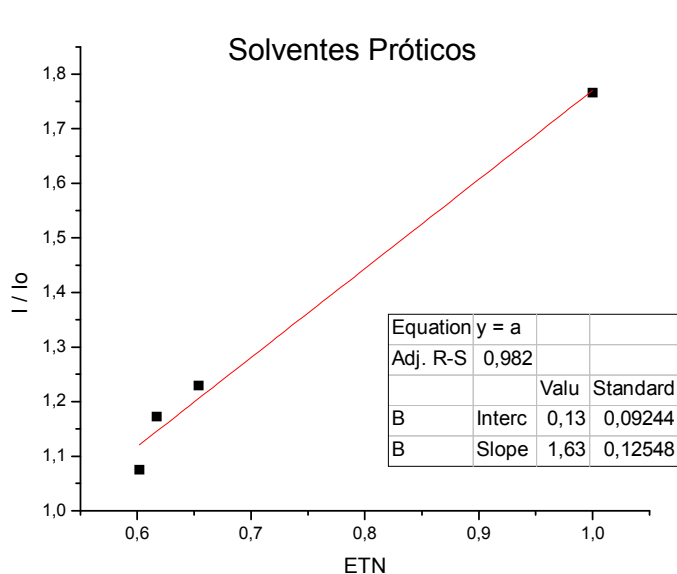
1.1. Resultados e Discussão

A razão entre as intensidades das bandas I e III do pireno para cada solvente foi plotada em função do valor ETN para cada solvente. A banda I possuía bastante variação com a mudança do solvente, já a banda III possuía pouca variação.

Os solventes foram divididos em dois grupos: próticos (possuem forças intermoleculares de hidrogênio) e apróticos.

A correlação linear entre as escalas Py e a escala ETN é mostrada nos gráficos. A escala Py é, portanto, uma escala de polaridade válida.

Dados Solventes Próticos



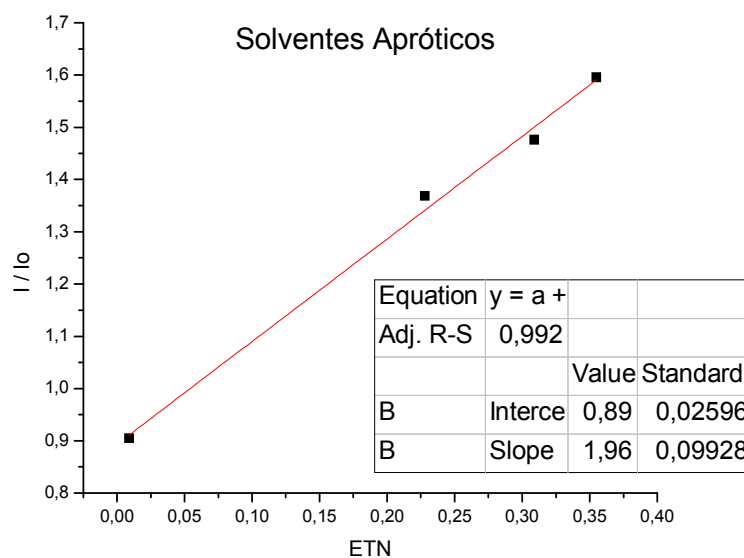
ETN I / I₀

1 1,76621

0,654 1,22876

0,617 1,17225

0,602 1,07497



Dados Solventes Apróticos

ETN	I / Io
0,009	0,90472
0,228	1,36817
0,309	1,47572
0,355	1,59516

Conclusão

A técnica de fluorescência pôde, nesse trabalho, ser explorada para a construção de uma escala de polaridade: a escala Py. Para testar se os dados obtidos correspondiam realmente a uma escala de polaridade válida, os resultados obtidos foram plotados em função de outra escala de polaridade: a escala ETN. A correlação linear entre as duas escalas demonstrou que a escala Py é equivalente a escala ETN.

ANEXO 6 – Relatório 3

RESULTADOS E QUESTIONÁRIO

A partir dos espectros de emissão de fluorescência das soluções 1 a 9 de pireno, foi completado a tabela abaixo:

Tabela 1. Dados de fluorescência do pireno em diferentes solventes.

Classificação	Solução	Solvente	Intensidade máxima de fluorescência do pico I, em 372,8 nm	Intensidade máxima de fluorescência do pico III, em 384,0 nm	Razão I/III (valor Py)
Prótico	1	água	332,5	191,058	1,74
Prótico	2	Etanol	41,572	33,476	1,24
Prótico	3	n-propanol	64,62	56,371	1,15
Prótico	4	n-butanol	60,69	55,614	1,10
Prótico	5	n-hexanol	-----	-----	-----
aprótico	6	Hexano	7,95	9,816	0,81
aprótico	7	Acetate de etila	33,707	24,231	1,39
aprótico	8	Diclorometano	84,297	59,592	1,41
aprótico	9	acetona	32,376	19,539	1,66

Tabela 2: Valores do parâmetro empírico de polaridade de solventes, E_T^N , medidos á 25,0°C

Solvente	E_T^N
tetrametilsilano (TMS)	0,000
hexano	0,009
acetato de etila	0,228
diclorometano	0,309
acetona	0,355
1-hexanol	0,559
1-butanol	0,602
1-propanol	0,617
etanol	0,654
metanol	0,762
água	1,000

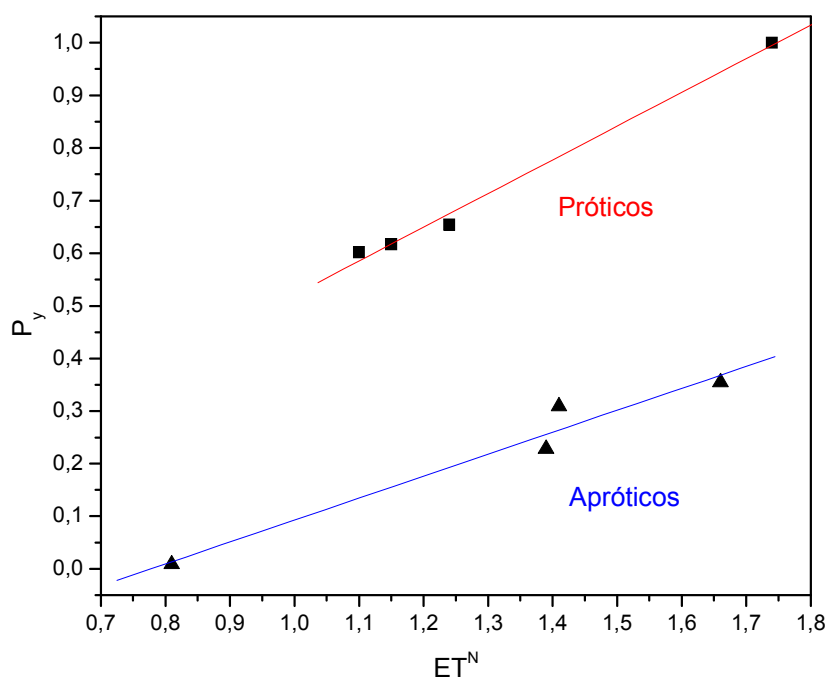


Figura 1: Escala de polaridade para solventes próticos e apróticos

1. A escala E_T^N , assim como a escala P_y , é um parâmetro empírico para medidas quantitativas de polaridade de solventes. Por ser mais bem compreendida, E_T^N é a escala mais utilizada e aceita atualmente; e por isso seus valores foram correlacionados com os de P_y . A partir do gráfico de P_y versus E_T^N obtido, responda:

a) Como os valores de P_y variaram em função dos valores de E_T^N ?

No gráfico acima, percebe-se que P_y varia linearmente com E_T^N . Ao se comparar os valores de I/III versus E_T^N , é possível observar duas regiões no gráfico com uma boa correlação: a região formada pelos solventes próticos e a formada pelos solventes apróticos. Observa-se que, para os dois grupos de solvente, o aumento de polaridade nos valores de I/III corresponde a um aumento de polaridade na escala E_T^N . Esta correlação é extrema importância pelo fato de os valores E_T^N serem reconhecidos como uma das escalas de polaridade mais facilmente compreendidas. Com isto é proposto que os valores de I/III sejam usados como uma escala de polaridade do solvente, a escala pireno, ou escala P_y , onde $P_y = I/III$.

b) Essa variação foi igual ou diferente para os dois grupos de solventes? Explique.

Essa variação linear ocorreu nos dois tipos de solventes, mas deve-se separar a escala dos solventes próticos da escala dos solventes apróticos, pois essa diferença de estrutura pode causar uma diferença entre interação das moléculas entre si (como a possível ocorrência de ligações de hidrogênio nos solventes próticos) que, por sua vez, as diferencia na forma de se comportar sob radiação.

c) A relação encontrada entre os dois parâmetros valida ou invalida o uso da fluorescência do pireno como medida quantitativa para polaridade de solventes?

Justifique.

A relação encontrada entre Py e E_T^N valida o uso da fluorescência como medida da polaridade dos solventes. Isso ocorre pois através da razão entre as intensidades máximas de fluorescência dos picos I e III (picos que variam com a variação da polaridade do solvente numa solução de pireno), tem-se o valor de Py para cada solvente, e associando com os valores de E_T^N (valores tabelado), se obtém a escala de polaridade dos solventes.

2. Como os picos I e III, do espectro de fluorescência do pireno, variaram em função da polaridade dos solventes?

O pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), todavia, mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) têm servido como uma medida quantitativa da polaridade do solvente, a chamada escala Py ($Py = I / III$).

3. A partir do esquema da Figura 2, explique por que a intensidade de fluorescência do pireno varia com a polaridade do solvente.

É a solvatação diferencial desses dois estados (S_0 e S_1) o fator responsável pela influência do solvente, bem como, de agregados micelares sobre o espectro de emissão de fluorescência. As interações envolvendo o pireno e o meio ocorrem exclusivamente através de forças dipolo-dipolo, já que não é possível que ele interaja com o meio através de interações específicas (principalmente por ligações de hidrogênio).

4. Por que a fluorescência do pireno ocorre em comprimentos de onda maiores (370 a 400 nm) que a absorção (336 nm)?

Ocorre que, durante o tempo de vida do estado excitado, pode haver uma variedade de interações químicas e físicas antes da emissão, alterando as características espectrais do composto fluorescente. Estas características podem ser, como neste caso, o deslocamento no comprimento de onda de emissão, pode ocorrer ainda o aparecimento de novas bandas e mudanças na intensidade de emissão.

5. Pesquise na literatura a diferença entre fosforescência e fluorescência.

Fluorescência é a capacidade de uma substância de emitir luz quando exposta a radiações do tipo raios ultravioleta (UV), raios catódicos ou raios X. As radiações absorvidas (invisíveis a olho humano) se transformam em luz visível, ou seja, de uma longitude de onda maior que a incidente. Por exemplo, é o fenômeno que faz com que certos materiais brilhem à exposição de UV emitida por uma lâmpada "luz negra". O fenômeno da fluorescência consiste na absorção de energia por um elétron, passando do estado fundamental (S_0) para o estado excitado (S_1), este elétron ao retornar ao estado fundamental é acompanhado pela libertação de energia em excesso através da emissão de radiação. Na Fluorescência todo o processo ocorre em tempo inferior a 0,00001 segundos. A diferença da fosforescência, é que a fluorescência dura apenas enquanto houver estímulo. A aplicação mais habitual deste fenômeno são as lâmpadas fluorescentes, onde uma substância branca que recobre o seu interior de cristal emite luz quando se cria uma corrente elétrica no interior do tubo. Outros usos da fluorescência são de detectar bilhetes falsos, já que só os verdadeiros levam impressos uma tinta fluorescente que são visíveis apenas com auxílio de uma "luz negra".

Já a fosforescência é a capacidade que uma espécie química tem de emitir luz, mesmo no escuro. É um fenômeno particular de um fenômeno geral denominado luminescência. Esse fenômeno acontece nas tintas fosforescentes usadas em placas de sinalização de rodovias, interruptores elétricos e mostradores de relógios. O processo também é usado em tubos de televisão, e em detectores de partículas elementares. Um exemplo de uma substância fosforescente é o sulfeto de zinco. Quando o sulfeto de zinco é exposto à luz, os elétrons dos átomos se excitam migrando para níveis de energia mais afastados do núcleo. Retirado a exposição à radiação, os elétrons retornam lentamente aos níveis mais internos emitindo luz, fenômeno denominado fosforescência. Acredita-se que este retorno dos elétrons ao estado fundamental é lento porque, quando excitados, atingem camadas eletrônicas denominadas níveis metaestáveis que retêm os elétrons numa espécie de "armadilha". Alguns materiais

tornam-se fosforescentes (tintas, ponteiros de relógios, por exemplo) devido à adição de algum material radioativo, que fornece a radiação para a criação do fenômeno. A vantagem da adição de um material radioativo é a fosforescência ocorrer sem cessar, mesmo que o ambiente fique escuro durante muitos anos.

ANEXO 7 – Relatório 4

Introdução

Uma molécula no estado fundamental pode, ao receber radiação eletromagnética, absorver uma fração dessa radiação e transmitir o restante. Após a absorção, durante um certo período de tempo, a molécula fica em um estado excitado. Esse aspecto de absorção-transmissão de cada molécula é explorado na técnica analítica de espectrometria no UV-Vis.

A fração absorvida pela espécie pode ser descarregada de vários jeitos:

- Na forma de calor, o que acontece com a maioria das moléculas.
- Na forma de emissão de radiação eletromagnética, o que acontece somente com algumas moléculas que possuem planaridade e sistemas pi conjugados .

O processo no qual a espécie química descarrega a energia absorvida pela segunda maneira é chamado fluorescência.

“A fluorescência molecular é medida excitando-se a amostra no comprimento de onda de absorção, também conhecida como comprimento de onda de excitação, e medindo-se a emissão a um comprimento de onda mais alto denominado comprimento de onda de fluorescência”. Renato Eising, TCC 2006.

O fóton emitido tem comprimento de onda menor em relação ao absorvido. No fenômeno de fluorescência pode ocorrer também o aparecimento de novas bandas.

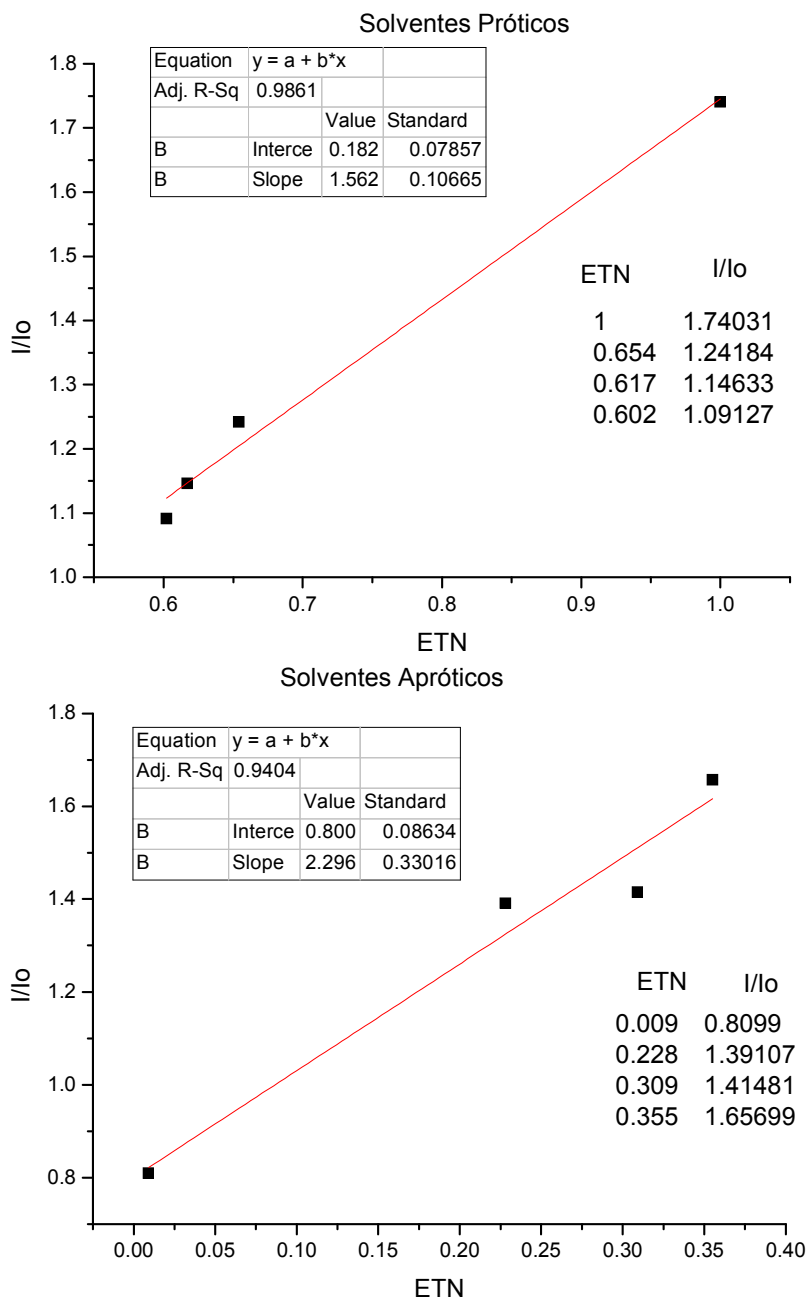
O espectro de fluorescência é sensível ao solvente e microambiente da espécie que fluoresce. Assim, com a técnica de fluorescência, podem ser feitas investigações a cerca da influência do solvente no espectro da espécie fluorescente e medidas indiretas de propriedades de solventes.

O pireno é uma substância fluorescente usada para estudar propriedades de solventes. Seu espectro de emissão possui cinco bandas bem definidas entre 370 e 400 nm. A banda I varia bastante com a influência do solvente e a banda III varia **pouco** (!?) com a mudança do solvente. Assim, a razão de intensidades I / III pode ser usada para construir uma escala de polaridade, chamada Py.

Objetivo

Esse trabalho tem como objetivo construir uma escala de polaridade py para 4 solventes próticos e 4 apróticos. Pretende-se também demonstrar sua correlação linear com outra escala de polaridade : a escala ETN.

1.2. Resultados e Discussão



Os gráficos mostram a correlação linear da escala ETN com a escala Py. Essas duas escalas são, portanto, equivalentes.

Os solventes próticos possuem interações particulares : as ligações de hidrogênio. Assim, esses solventes não podem entrar na mesma escala que os solventes apróticos.

Conclusão

O experimento demonstrou que a medida de fluorescência do pireno pode ser usada para se construir uma escala de polaridade válida, isto é, que possui correlação linear com outra escala aceita.

ANEXO 8 – Relatório 5

01. INTRODUÇÃO

A absorção de um fóton por uma molécula, levando à excitação de um elétron a um estado eletrônico mais elevado é, em geral, acompanhada de uma transição de estado vibracional. Como a massa dos núcleos é muito maior que a dos elétrons, aqueles podem ser considerados estáticos na escala do tempo da transição eletrônica (princípio de Frank-Condon). Com o elétron em um nível eletrônico mais energético, os núcleos irão reagir a esta nova configuração situando-se em um estado vibracional diferente (Figura 1).

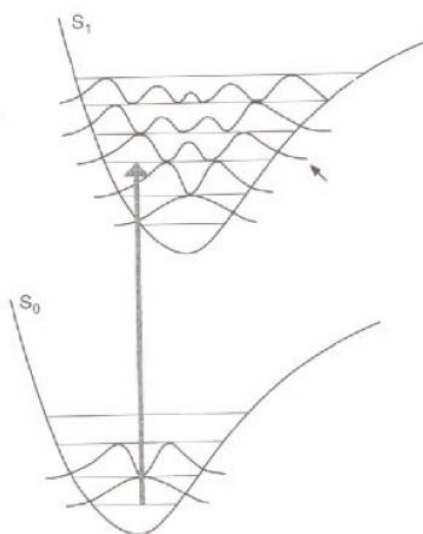


Figura 1: A função de onda vibracional no estado eletrônico excitado com maior coincidência com a função de onda vibracional anterior, no estado fundamental, terá maior probabilidade de ocorrer.

Após a excitação a um estado vibracional mais excitado, a molécula tende a relaxar por meio da interação com o meio circundante. A relaxação de um nível vibracional mais alto para o nível vibracional de mais baixa energia de um certo estado eletrônico pode ocorrer em 10^{-12} s (ou menos) em meios condensados. Processos de conversão interna, isto é, a passagem da molécula de um estado eletrônico de mais alta energia com nível vibracional de mais baixa energia para um estado eletrônico de mais baixa energia, mas com nível vibracional excitado, ocorrem também na escala de tempo de 10^{-12} s.

Decaimentos não-radiativos podem continuar a ocorrer até o estado fundamental (também por conversão interna). Esses decaimentos ocorrem em tempos que variam de 10^{-12} s a 10^{-6} s. A taxa de decaimento radiativo situa-se em torno de 10^7 s $^{-1}$ a 10^8 s $^{-1}$ para uma transição óptica forte (alta taxa de decaimento radiativo). Como essas emissões ocorrem muito mais provavelmente do nível vibracional menos energético (10^{12} s $^{-1}$ para transições vibracionais contra 10^8 s $^{-1}$ para transições fluorescentes), portanto, após haver ocorrido decaimentos não-radiativos,

na maioria dos casos, a energia do fóton emitido é menor que a do fóton absorvido. A fluorescência de uma molécula é o decaimento de um estado excitado para o estado fundamental por meio de emissão espontânea de um fóton.

A ocorrência de fluorescência em uma molécula (quando excitada por luz com um determinado comprimento de onda) está vinculada à comparação dos coeficientes de decaimento pelo(s) caminho(s) não-radiativo(s). A fluorescência acontece quando a taxa de decaimento radiativo é pelo menos comparável à taxa de decaimento não-radiativo.

Uma das características mais atrativas da espectroscopia de fluorescência é sua sensibilidade, se comparada com a espectroscopia de absorção. O limite de detecção das técnicas fluorimétricas é, em geral, de uma a três ordens de magnitude menor do que as de espectrofotometria de absorção. Seu limite de detecção está, tipicamente, na escala de partes por bilhão. Esta alta sensibilidade se deve à existência de detectores capazes de detectar um fóton (detectores *photon counting*). Já os detectores de espectroscopia por absorção se baseiam na detecção de uma redução da intensidade da radiação incidente, o que faz necessário medir radiações de grande intensidade que estão fora da faixa de operação dos dispositivos *photon counting*.

Outra vantagem acessória é a grande faixa de concentração do fluoróforo em que as medidas de intensidade guardam uma relação linear, simplificando assim o procedimento laboratorial de rotina. Igualmente importante, é o fato de os métodos de espectroscopia por fluorescência serem muito mais seletivos. Em contrapartida, esta técnica se limita a um número relativamente pequeno de estruturas moleculares que apresentam emissão fluorescente após a absorção de fótons.

A fluorescência ocorre tanto em sistemas químicos simples como complexos, sejam gases, líquidos ou sólidos. O tipo de fluorescência em que a radiação absorvida é reemitida sem alteração de frequência é chamada de fluorescência ressonante. As bandas de fluorescência molecular, contudo, encontram-se, muito mais frequentemente, centradas em comprimentos de onda maiores (energias menores) que o da linha de ressonância. A Figura 2 mostra esquematicamente as diferentes formas de decaimento para elétrons excitados. Duas dessas transições, a fluorescência e a fosforescência, são radiativas, pois envolvem a liberação de fótons. Porém, outras formas de transição não radiativas podem ocorrer.

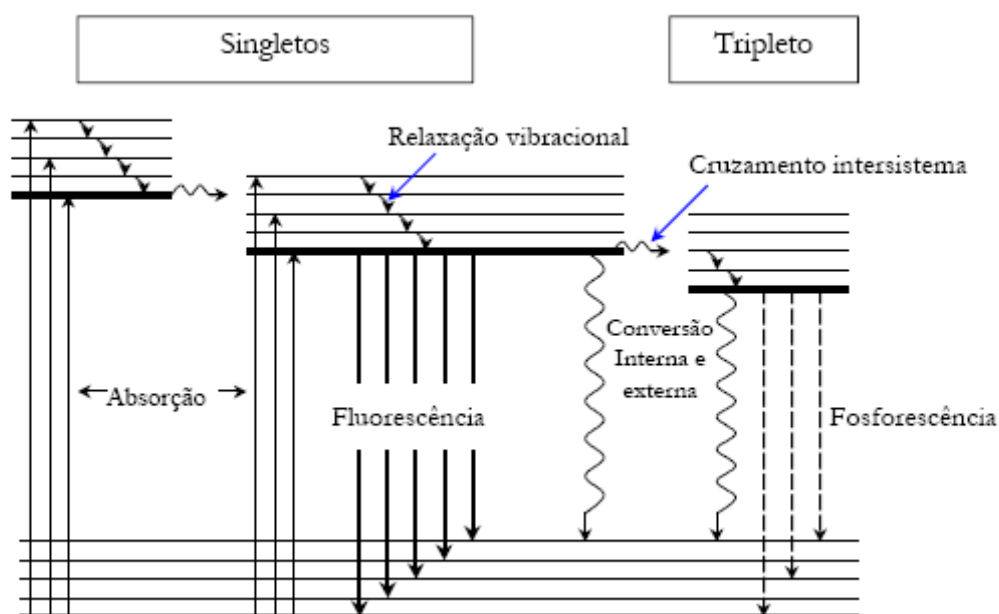


Figura 2: Esquema de excitação e decaimento dos elétrons. Os níveis excitados à esquerda exemplificam estados singletos. O nível eletrônico excitado da direita representa um tripleto.

A Figura 3 mostra a outra alternativa de decaimento que ocorre quando a molécula em estado excitado troca seu spin total realizando um cruzamento intersistema do estado onde $S = 0$ (singlete) para um estado com $S = 1$ (triplete). Neste estado, o decaimento ao estado fundamental por emissão radiativa de um fóton de maior comprimento de onda é denominado fosforescência. Como a taxa de cruzamento intersistemas é baixa (até 10^1s^{-1}), fosforescência é um processo “lento”.

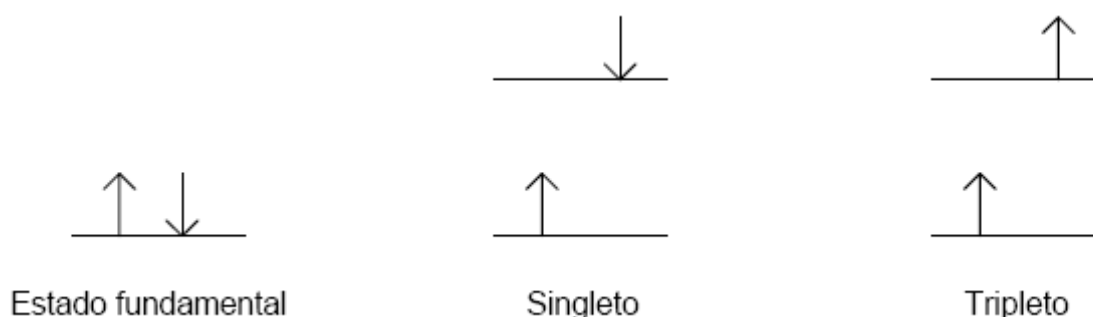


Figura 3: Possibilidades de composição de spins para um par de elétrons

Os processos não radiativos para a desexcitação da molécula são a relaxação vibracional, a conversão interna, a conversão externa e o cruzamento intersistemas. Como descrito a seguir, esses processos podem competir com as transições radiativas ou mesmo complementá-las.

Relaxação vibracional: Uma molécula pode ser excitada a qualquer um dos níveis vibracionais dos níveis eletrônicos mais energéticos durante um processo de excitação eletrônica. Em um solvente, entretanto, este "excesso" de energia vibracional é muito rapidamente perdido para o meio, resultando em um pequeno acréscimo na temperatura deste e levando o elétron ao mais baixo nível vibracional

do estado excitado. O processo de relaxação vibracional é tão eficiente que o tempo de vida dos níveis vibracionais é da ordem de 10^{-12} s ou menos. Desta forma, a banda de fluorescência associada a esta transição eletrônica, quando existente, ocorre a energias menores que da excitação inicial.

Conversão interna: Este fenômeno ocorre quando os níveis vibracionais de um estado eletrônico de mais baixa energia se superpõem, em energia, aos níveis vibracionais de outro estado eletrônico de maior energia para o qual o elétron foi excitado. Assim, o elétron pode decair para o estado eletrônico de menor energia de forma não radiativa. Esta conversão interna, além de impedir a emissão fluorescente, pode ser responsável pela pré-dissociação destas moléculas, uma vez que a transferência do elétron para um estado vibracional alto de um estado eletrônico menos energético pode provocar a ruptura da ligação molecular.

Conversão externa: A desativação de estados eletrônicos excitados podem envolver interações e transferência de energia entre a molécula excitada e o solvente ou outros solutos da solução. Esta conversão externa é experimentada quando se verifica o efeito na intensidade da fluorescência devido à mudança do solvente. Baixa temperatura e alta viscosidade, que diminuem a colisão entre partículas, geralmente levam a um aumento da fluorescência.

Cruzamento intersistemas: Este é o processo no qual o spin do elétron excitado é invertido e, por exemplo, permite a migração deste para um estado tripleto. Este processo é mais comum em moléculas contendo átomos pesados. As interações spin/órbita ficam mais fortes na presença de tais átomos e, desta forma, a mudança do spin é favorecida. A presença, na solução, de espécies paramagnéticas, tais como o oxigênio molecular, também promove o cruzamento intersistemas, diminuindo a fluorescência.

Estes mecanismos limitam a fotoluminescência a um número relativamente pequeno de sistemas. A rota mais favorável para o decaimento é aquele que minimiza o tempo de vida dos estados excitados. Desta forma, o decaimento por fluorescência será observado se o sistema apresentar características estruturais e ambientais que façam este decaimento rápido o suficiente em relação aos processos não radiativos.

A fluorescência raramente ocorre para excitações com radiação ultravioleta de comprimento de onda menor que 250nm (~ 5 eV), pois tal radiação é constituída por fótons com energia suficiente para causar a desativação da molécula por dissociação ou pré-dissociação. (Na dissociação, a radiação absorvida leva o elétron diretamente para um nível vibracional suficientemente energético para causar a ruptura da ligação. No caso da pré-dissociação, a radiação leva inicialmente o elétron a um nível eletrônico de mais alta energia. Posteriormente, por cruzamento intersistema, o elétron passa a um nível eletrônico baixo, mas em um nível vibracional mais energético. A pré-dissociação ocorre quando este nível vibracional tem energia suficiente para causar a ruptura da ligação).

É observado empiricamente que a fluorescência é mais encontrada em compostos nos quais a transição de mais baixa energia é do tipo $\pi^* \rightarrow \pi$. Este fato pode ser compreendido pelo maior coeficiente de absorção deste tipo de transição que para transições do tipo $\pi^* \rightarrow n$ (da ordem de 100 a 1000 vezes maior).

Sabe-se empiricamente que moléculas que possuem estrutura rígida fluorescem mais. A falta de rigidez provavelmente causa um aumento na taxa de conversão interna diminuindo a fluorescência. Igualmente conhecido é o fato de que há um aumento da fluorescência quando corantes fluorescentes são adsorvidos em superfícies sólidas. Aqui também a rigidez estrutural, adicionada pela superfície,

pode ser responsável pelo efeito observado. Outro fator de alteração da intensidade da fluorescência é a presença de oxigênio dissolvido. Neste caso, há, freqüentemente, a diminuição da fluorescência. Duas razões concorrem para este efeito: a ocorrência de indução fotoquímica da oxidação das espécies fluorescentes ou, o que é mais comum, o cruzamento intersistema, levando a molécula a um estado excitado tripleto, em virtude das propriedades paramagnéticas do oxigênio molecular.

02. OBJETIVO

Estudar a influência de solventes próticos e apróticos no espectro de fluorescência do pireno.

03. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 01: Dados de fluorescência do pireno em diferentes solventes

Classe	Solução	Solvente	Intensidade máxima de fluorescência do pico I em 372,8 nm	Intensidade máxima de fluorescência do pico III em 384,0 nm	Razão I/III (valor <i>Py</i>)
Prótico	1	Água	332,5	131,1	2,536
Prótico	2	Etanol	41,57	33,48	1,242
Prótico	3	n-Propanol	64,62	56,37	1,146
Prótico	4	n-Butanol	60,69	55,61	1,091
Prótico	5	n-Hexanol	-	-	-
Aprótico	6	Hexano	7,950	9,816	0,8099
Aprótico	7	Acetato de etila	33,71	24,23	1,391
Aprótico	8	Diclorometano	84,30	59,59	1,141
Aprótico	9	Acetona	32,38	19,54	1,657

Tabela 02: Valores do parâmetro empírico de polaridade (E_T^N)

Solvente	E_T^N
Tetrametilsilano (TMS)	0,000
Hexano	0,009
Acetato de etila	0,228
Diclorometano	0,309
Acetona	0,355
1-Hexanol	0,559
1-Butanol	0,602
1-Propanol	0,617
Etanol	0,654
Metanol	0,762
Água	1,000

Questionário

1. A escala E_T^N , assim como a escala Py , é um parâmetro empírico para medidas quantitativas de polaridade dos solventes. Por ser mais bem compreendida, E_T^N é a escala mais utilizada e aceita atualmente; e por isso seus valores foram correlacionados com os de Py .

A partir do gráfico de Py versus E_T^N obtido, responda:

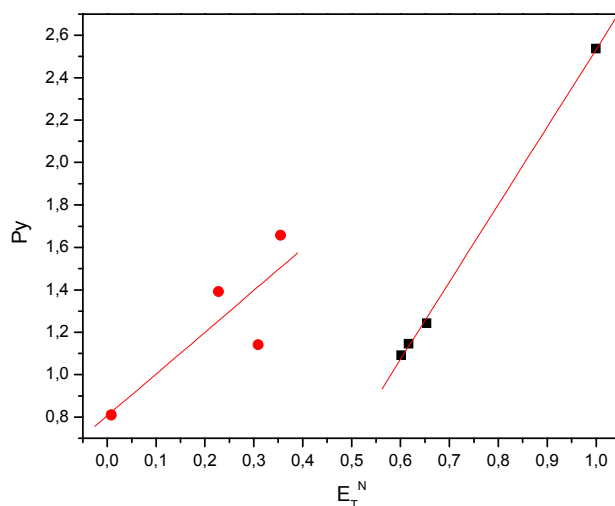


Gráfico 01: Py em função de E_T^N

a) Como os valores de Py variam em função dos valores de E_T^N ?

Resposta:

Observa-se por meio do gráfico que para solventes próticos os valores de Py crescem linearmente com o aumento da polaridade do solvente, já para os solventes apróticos os valores de Py crescem, mas não seguem um padrão linear.

b) Essa variação foi igual ou diferente para os dois grupos de solventes? Explique.

Resposta:

Foi diferente, pois como se observa no gráfico para solventes próticos a relação é linear e para solventes apróticos não-linear.

c) A relação encontrada entre os dois parâmetros valida ou invalida o uso da fluorescência do pireno como medida quantitativa para polaridade de solventes? Justifique.

Resposta:

Valida, pois por meio do gráfico observa-se que os dois grupos de solventes influenciam de maneira diferente os espectros de emissão. Para solventes próticos observa-se que a emissão ocorre em comprimentos de ondas maiores (menor

energia é liberada) e quando são utilizados solventes apróticos a emissão ocorre em comprimentos de ondas menores (maior energia é liberada).

2. Como os picos I e III, do espectro de fluorescência do pireno, variam em função da polaridade dos solventes?

Resposta:

O pico I (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=0}$), todavia, mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (transição $S_1^{v=0} \rightarrow S_0^{v=2}$). Por isso, a razão das intensidades de fluorescência das bandas vibrônicas I (em aproximadamente, 372,8 nm) e III (em torno de 384,0 nm) tem servido como uma medida quantitativa da polaridade do solvente, a chamada escala *Py* ($Py = I / III$).

3. A partir do esquema da Figura 2, explique porque a intensidade da fluorescência do pireno varia com a polaridade do solvente.

Resposta:

Como as moléculas do solvente não têm tempo suficiente para se reorganizarem durante a transição, a absorção ocorre em um ambiente característico do soluto solvatado no estado fundamental (S_0). Antes de a emissão de fluorescência ocorrer, porém, se o tempo de vida da molécula excitada do soluto é grande o bastante, as moléculas do solvente se reorganizam e este novo ambiente (S_1) é preservado na transição radioativa ($S_1 \rightarrow S_0$).

4. Por que a fluorescência do pireno ocorre em comprimentos de onda maiores (370 a 400 nm) que a absorção (336 nm)?

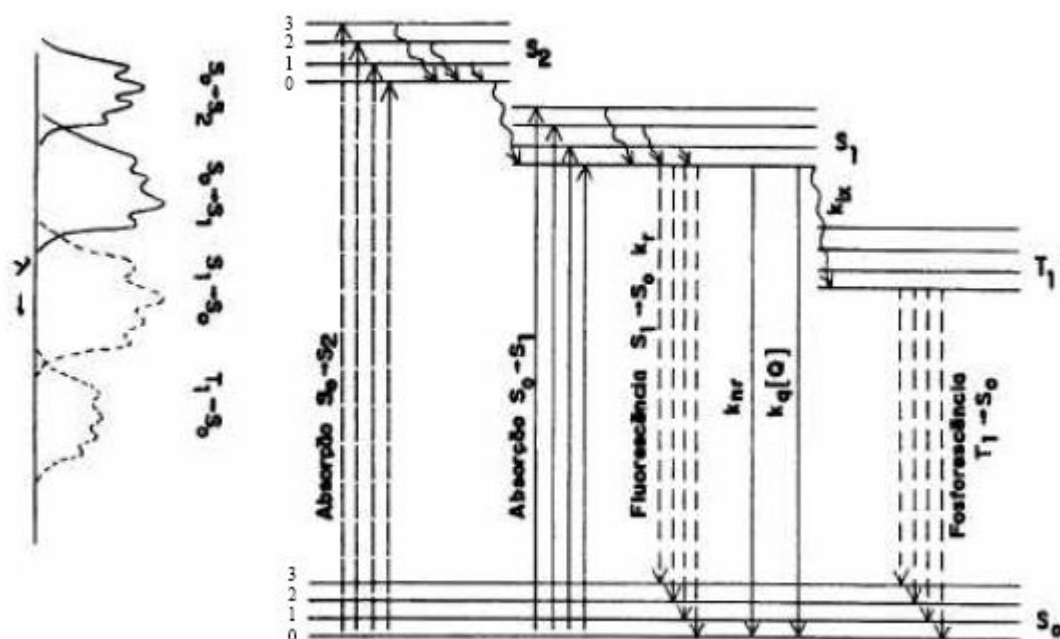
Resposta:

A ocorrência de fluorescência em uma molécula (quando excitada por luz com um determinado comprimento de onda) está vinculada à comparação dos coeficientes de decaimento pelo(s) caminho(s) não-radiativo(s). A fluorescência acontece quando a taxa de decaimento radiativo é pelo menos comparável à taxa de decaimento não-radiativo. No caso do pireno o decaimento (espectro de emissão) ocorre com liberação de uma quantidade menor de energia do que aquela necessária para promover o elétron para um subnível de maior energia (espectro de absorção), conseqüentemente os espectros de fluorescência (emissão) ocorrem em comprimentos de ondas maiores que a absorção.

5. Pesquise na literatura a diferença entre fosforescência e fluorescência. Procure explicar utilizando o diagrama de Jablonski.

Resposta:

O *Diagrama de Jablonski* mostra os processos de absorção e relaxação de um átomo ou molécula. A absorção de radiação eletromagnética no UV ou visível induz uma transição eletrônica do estado fundamental, S_0 , até algum nível vibracional dos estados eletrônicos excitados, S_1 ou S_2 . Este fenômeno ocorre em um intervalo de tempo da ordem de 10^{-15} s.



Pelo *Diagrama de Jablonski*. Os estados eletrônicos fundamental, primeiro e segundo estados excitados são representados por S_0 , S_1 e S_2 , respectivamente. Em cada nível de energia eletrônico existe uma série de níveis de energia vibracionais. Os espectros hipotéticos de absorção e emissão de fluorescência e fosforescência, correspondentes às transições observadas no diagrama, encontram-se à esquerda.

Transições radioativas $S_1 \rightarrow S_0$ são permitidas pela regra de conservação do spin; esse tipo de decaimento é chamado fluorescência; decaimentos radioativos $T_1 \rightarrow S_0$ são proibidos pela regra de conservação do *spin*, este fenômeno é chamado de fosforescência.

04. CONCLUSÃO

Por meio deste experimento foi possível estudar a influência dos solventes na espectroscopia de fluorescência e como ocorre a variação das bandas de emissão quando são utilizados solventes polares (próticos) e solventes apolares (apróticos).

05. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. http://www.qmc.ufsc.br/~minatti/docs/20081/20081_qmc5409_experiencia9_fluorescencia_pireno.pdf
2. ATKINS, Peter; PAULA, Julio de. **Atkins: Físico-Química**. 7. ed. Tradução de Edílson Clemente da Silva, Márcio José Estillac de Mello Cardoso e Oswaldo Esteves Barcia. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., v. 2, 2004. 593 p.